

SÉRIE A n° 4098

N° D'ORDRE : 4949

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Michel GUERNET

Assistant à la Faculté de Pharmacie
Pharmacien des Hôpitaux de Paris

1^{re} Thèse — Contribution à l'étude de l'oxydation ménagée par l'acide periodique de quelques disaccharides.

(Isolement et structure des produits intermédiaires)

2^{eme} Thèse — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 11 Juin 1963, devant la Commission d'Examen.

Jury	{	MM. QUÉLET :	Président
		WILLEMART	Examineurs
		CLAUSER	



**SEDES
PARIS**

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Michel GUERNET

Assistant à la Faculté de Pharmacie
Pharmacien des Hôpitaux de Paris

1^{re} Thèse — Contribution à l'étude de l'oxydation ménagée par l'acide periodique de quelques disaccharides.

(Isolement et structure des produits intermédiaires)

2^{eme} Thèse — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 11 Juin 1963, devant la Commission d'Examen.

Jury	{	MM. QUÉLET :	Président
		WILLEMART	Examineurs
		CLAUSER	



SOCIÉTÉ D'ÉDITION D'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
5, place de la Sorbonne - Paris (Ve)



A MA FEMME

A MON FILS

A MES PARENTS

A Monsieur le Professeur QUELET,
Professeur à la Faculté des Sciences de Paris,

qui a bien voulu accepter le patronage de ce
travail et présider notre Jury de Thèse.

Hommage et profond respect.

A Monsieur le Professeur WILLEMART,
Professeur à la Faculté des Sciences de Paris,

qui nous a fait l'honneur de juger ce travail.

Très respectueux hommage.

A Monsieur le Professeur CLAUSER,
Maître de conférences à la Faculté des Sciences de Paris,

qui a bien voulu faire partie de notre Jury
de Thèse.

En hommage de notre respectueuse gratitude.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A Monsieur le Professeur J. E. COURTOIS,
Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris,
Pharmacien des Hôpitaux de Paris,

qui nous a confié ce travail et en a toujours
suivi la réalisation avec beaucoup d'intérêt et
de bienveillance.

En témoignage de toute notre reconnaissance
et de notre respectueux attachement.

A Monsieur le Professeur P. MALANGEAU,
Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris,
Pharmacien en Chef des hôpitaux psychiatriques de la Seine,

qui a bien voulu nous agréer comme assistant
à la chaire de Chimie analytique et nous a
constamment dirigé au cours de nos recherches.
En témoignage de notre profond respect et de
notre sincère reconnaissance.

Avant d'exposer ce travail, qu'il nous soit permis d'exprimer à Monsieur BOURDON, *Maître de conférences, Pharmacien des Hôpitaux de Paris*, qui nous a donné de multiples témoignages de sympathie pendant notre séjour au laboratoire et qui nous a toujours fait profiter de sa grande expérience et de ses conseils avisés, notre respectueuse reconnaissance.

Que tous nos collègues de laboratoire, veuillent bien trouver ici l'expression de toute notre gratitude.

Les spectres I.R. ont été réalisés dans le service de Monsieur le Professeur J. GUY, *Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris*, à qui nous adressons nos respectueux remerciements.

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen..... M. ZAMANSKY

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparée.
GRASSÉ.....	T	Evolution des êtres organisés.
PREVOST	T	Chimie organique.
WYART	T	Minéralogie et Cristallographie.
TEISSIER	T	Zoologie.
MANGENOT.....	T	Biologie végétale (Orsay).
AUGER	T	Physique quantique et Relativité.
MONNIER	T	Physiologie générale.
PIVETEAU	T	Paléontologie.
ROCARD	T	Physique (E.N.S.).
CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.).
LAFFITTE	T	Chimie générale.
FAVARD	T	Géométrie supérieure.
COULOMB	T	Physique du Globe.
M ^{lle} COUSIN	T	Biologie animale (S.P.C.N.).
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.
DRACH	T	Zoologie.
KASTLER	T	Physique (E.N.S.).
EPHRUSSI	T	Génétique.
RIVIÈRE	T	Géologie (S.P.C.N.) et Sédimentation.
GAUTHERET	T	Biologie végétale (P.C.B.).
LUCAS R.	T	Recherches physiques.
THOMAS A.	T	Biologie cellulaire.
ARNULF	T	Optique appliquée.
MORAND	T	Physique Enseignement.
SOLEILLET	T	Physique (P.C.B.).
FORTIER	T	Mécanique expérimentale des Fluides.
DANJON	T	Astronomie.
PETIT	T	Biologie maritime.
QUENEY	T	Météorologie et Dynamique atmosphérique.
GALLIEN	T	Embryologie.
EICHHORN	T	Botanique.
DE CUGNAC.....	T	Biologie végétale (S.P.C.N.).
M ^{lle} CAUCHOIS	T	Chimie physique.
THELLIER.....	T	Physique du Globe.
L'HÉRITIER	T	Biologie générale (Orsay).

GRIVET	T Radioélectricité (Orsay).
PONCIN	T Mécanique générale.
DUBREIL	T Arithmétique et Théorie des Nombres.
QUELET	T Chimie organique.
CAGNIARD	T Géophysique appliquée.
CHAMPETIER	T Chimie macromoléculaire.
CUVILLIER	T Micropaléontologie.
JUNG	T Pétrographie.
TRILLAT	T Microscopie et Diffraction électronique.
WIEMANN	T Chimie organique et structurale.
JACQUINOT	T Spectroscopie et Physique céleste (Orsay).
VASSY	T Physique de l'atmosphère.
DESTOUCHES	T Théories physiques.
AMIEL	T Chimie générale.
HOCART	T Minéralogie et Cristallographie.
MATHIEU J.-P.	T Physique optique.
COUTEAUX	T Biologie animale (P.C.B.).
MAY	T Zoologie (Orsay).
CHOQUET	T Théorie des fonctions et Topologie.
FELDMANN	T Biologie végétale marine.
GUINIER	T Physique des Solides (Orsay).
JOST	T Physiologie comparée.
FORTET	T Calcul des Probabilités et Physique mathématique.
SCHWARTZ	T Calcul différentiel et intégral.
CHOUARD	T Physiologie végétale.
MALAVARD	T Aviation (Technique aéronautique).
BRELOT	T Calcul différentiel et intégral.
NORMANT	T Chimie organique.
BENARD	T Chimie minérale.
BUVAT	T Botanique (E.N.S.).
DUGUE	T Statistiques mathématiques.
SOULAIRAC	T Psychophysiologie.
ULRICH	T Physiologie végétale.
MARÉCHAL	T Optique théorique et appliquée.
KIRRMANN	T Théories chimiques.
CHADEFAUD	T Botanique.
M ^{lle} LE BRETON	T Physiologie de la Nutrition.
SALEM	T Mathématiques générales.
LELONG	T Application de l'analyse à la Géométrie.
DEVILLERS	T Anatomie et Histologie comparée
EHRESMANN	T Topologie algébrique.
FRANÇON	T Physique (S.P.C.N.).
GLANGEAUD	T Géographie physique et Géologie dynamique.
GODEMENT	T Mathématiques (M.P.C.).
PISOT	T Techniques mathématiques de la Physique.
ROCH	T Géologie.
SCHATZMAN	T Astrophysique.
TERMIER	T Paléontologie stratigraphique.
ZAMANSKY	T Mathématiques générales.
LENNUIER	T Physique (M.G.P.).
RIZET	T Génétique.
ROUTHIER	T Géologie appliquée.
M ^{me} TONNELAT	T Physique théorique.
DIXMIER	T Mathématiques (M.P.C.).
SOUCHAY	T Chimie générale.
AIGRAIN	T Electrotechnique générale.
BRUSSET	T Chimie systématique.
LÉVY M.	T Physique théorique des Hautes Energies (Orsay).
M ^{me} CHAIX	T Chimie biologique.
M ^{me} HUREL-PY	T Biologie végétale (P.C.B.).

PIAUX.....	T Chimie (M.P.C.).
BRUN	T Mécanique théorique des Fluides.
LEDERER	T Chimie biologique.
M ^{me} DUBREIL.....	T Mathématiques (Agrég.).
M ^{me} LELONG	T Mathématiques II (E.N.S.).
BELLAIR	T Géologie (S.P.C.N.).
COTTE	T Physique Electricité.
DUBOIS J.-E.	T Chimie organique.
LAMOTTE	T Zoologie (E.N.S.).
MICHEL A.	T Chimie minérale (Orsay).
OLMER	T Energétique générale.
ROUAULT	T Electricité (Orsay).
GAUTHIER	T Mécanique appliquée.
BARCHEWITZ	T Chimie physique.
BROSSEL	T Physique atomique.
BUSER	T Physiologie comparée.
CAMUS	T Physiologie végétale (B.M.P.V.).
CASTAING	T Physique II. Thermodynamique (Orsay).
CURIEN	T Minéralogie et Cristallographie.
MOYSE	T Physiologie végétale (Orsay).
NOIROT.....	T Evolution des Etres organiques.
PANNETIER	T Chimie générale.
POSSOMPES	T Zoologie.
PULLMANN	T Chimie quantique.
TEILLAC	T Physique nucléaire et Radioactivité.
TONNELAT	T Biologie physico-chimique.
VILLE	T Econométrie.
WILLEMART	T Chimie (P.C.B.).
DODE	T Chimie (Orsay).
FREYMANN	T Recherches physiques.
GUINOCHET	T Biologie végétale (S.P.C.N.) (Orsay).
ROLLET	T Chimie minérale.
M ^{lle} JOSIEN	T Chimie (S.P.C.N.).
CHEVALLEY	T Géométrie algébrique et Théorie des groupes.
ARNOULT	T Electronique (Orsay).
CHAPELLE	T Physique (Orsay).
DELANGE	T Mathématiques.I (Orsay).
DENY	T Mathématiques générales.
GERMAIN	T Mécanique théorique des Fluides.
LUCAS G.....	T Géologie.
ALLARD	T Chimie physique.
BERTHELOT	T Physique des particules fondamentales.
BRICART	T Météorologie et Physique de l'atmosphère.
M ^{me} ALBE-FESSARD	T Psychophysiologie.
FRIEDEL.....	T Physique des Solides (Orsay).
JULIA M.	T Etudes des Molécules naturelles complexes.
LENDER	T Biologie animale (S.P.C.N.) (Orsay).
MAGAT	T Physico-chimie des Radioéléments.
M ^{lle} QUINTIN	T Electrochimie.
MONOD	T Chimie du métabolisme.
BENOIT	T Physiologie animale (Orsay).
DE POSSEL	T Analyse numérique.
CHARLOT	T Chimie analytique.
LEMÉE	T Physiologie végétale (B.M.P.V.) (Orsay).
GUÉRIN	T Chimie (M.P.C.) (Orsay).
CHATELET M.	T Chimie (P.C.B.).
JEAN.....	T Physique nucléaire (Orsay).
MATTLER	T Physique (S.P.C.N.).
BERGERARD	T Zoologie (Orsay).
BERTEIN.....	T Electronique (Orsay).

BOUSSIÈRES		Chimie des radioéléments (Orsay).
M ^{me} COUTURE	T	Thermodynamique et Mécanique physique.
ELLENBERGER	T	Géologie des grandes régions du globe.
FRANC	T	Biologie animale (P.C.B.).
SCHNELL		Botanique tropicale (Orsay).
STOLKOWSKI	T	Physiologie végétale.
ACHER		Chimie biologique (Orsay).
BAUDOIN		Biologie animale (P.C.B.).
BEAUMONT		Biologie animale (S.P.C.N.).
BLAMONT	T	Géophysique ionosphérique.
BOURREAU		Botanique.
CURIE D.		Physique (M.G.P.).
DURAND-DELGA	T	Géologie.
FRÉON	T	Chimie organique (Orsay).
HELLER	T	Physiologie végétale.
TORTRAT	T	Calcul des Probabilités.
CAILLEUX.....		Géologie (S.P.C.N.).
MAGNAN	T	Physique (S.P.C.N.).
DAUDEL	T	Mécanique ondulatoire appliquée à la Chimie théorique et à la Physique nucléaire.
M ^{lle} FOURCROY		Biologie végétale (S.P.C.N.).
M ^{me} CHOQUET-BRUHAT	T	Mécanique analytique et Mécanique céleste.
M ^{lle} VEIL		Physiologie générale.
LWOF	T	Microbiologie.
SIESTRUNCK.....	T	Mécanique physique et expérimentale.
LACOMBE	T	Métallurgie des Métaux nucléaires.
BROCHARD	T	Physique (P.C.B.) (Orsay).
CABANNES	T	Mécanique générale.
LESIEUR	T	Mathématiques.I (Orsay).
MAZET	T	Mécanique générale (Orsay).
CAIRE		Géographie physique et Géologie dynamique.
COMOLET	T	Mécanique des Fluides.
CORABŒUF		Physiologie animale (Orsay).
DELOUE		Physique de l'exosphère.
GORENFLOT		Botanique.II (Orsay).
HOUILLOIN		Biologie animale (P.C.B.).
JULLIEN J.		Chimie (S.P.C.N.) (Orsay).
MALGRANGE.....	T	Technique mathématique de la Physique (Orsay).
OLIVIER		Antropologie.
NOZERAN	T	Botanique. II (Orsay).
BLANC-LAPIERRE	T	Physique (E.N.S.) (Orsay).
CHEVAUGEON	T	Botanique (Orsay).
KAHANE	T	Mathématiques (Orsay).
SAMUEL	T	Mathématiques (E.N.S.) féminines.
KOURGANOFF	T	Astronomie (Orsay).
THIRY.....	T	Mécanique céleste.
ABELES		Physique (S.P.S.C.N.).
AMAT		Physique (P.C.B.).
AUBOIN		Géologie.
M ^{me} BENOIT-GUEUTAL		Physique nucléaire et Radioactivité.
BOUGIS		Biologie marine (Villefranche-sur-Mer).
BRUHAT	T	Mathématiques (M.P.C.).
BRUNN	T	Géologie historique (Orsay).
CHABBAL		Physique (M.G.P.) (Orsay).
DEHEUVELS	T	Mathématique et Propédeutique (Orsay).
D'ESPAGNAT		Physique théorique (Orsay).
FURON		Géologie (S.P.C.N.).
M ^{me} GANS	T	Génétique.
GENÈVES		Biologie végétale (P.C.B.).
GUILBERT		Physique (C.U.S.) (Orléans).

HUPE		Pétrographie.
HOLLANDE	T	Biologie générale.
LIONS	T	Analyse numérique.
MAITTE.....		Chimie (P.C.B.).
MEYER		Physique propédeutique.
NICOLAS		Géologie appliquée.
PANIGEL.....		Biologie générale.
RAVIER		Pétrographie.
ROSEAU	T	Mécanique théorique des Fluides.
ROUBINE		Electronique.
SILBER	T	Chimie (P.C.B.).
UEBERSFELD	T	Electronique.
YVON	T	Théories physiques.

Secrétaire général..... R. POUILLAIN

GÉNÉRALITÉS

L'acide periodique est un oxydant très sélectif des liaisons α -glycol.

De ce fait, son emploi s'est rapidement généralisé dans le domaine de la chimie des glucides.

Dès la découverte de ses propriétés oxydantes particulières vis-à-vis des polyols par MALAPRADE (67), FLEURY et LANGE (46), et à leur suite, de nombreux auteurs ont étudié la nature des composés résultant de la dégradation complète de nombreux osides par un excès d'oxydant.

En revanche, l'étude des mécanismes d'oxydation n'est que relativement récente. Le clivage d'une molécule renfermant plusieurs liaisons oxydables peut s'effectuer suivant plusieurs séquences de réactions différentes, bien que le « chemin » utilisé conduise toujours qualitativement et quantitativement aux mêmes produits. Dans les différentes voies d'attaque d'une même molécule, il en apparaît généralement une qui se révèle très préférentielle aux autres.

L'étude de l'oxydation partielle des polyols montre que le premier point d'attaque se localise sur des fonctions α -glycol en position thréo [SCHWARZ (89)] ou sur les fonctions α -glycol comprenant un groupement alcool primaire [COURTOIS et GUERNET (34, 54)].

De même, les aldohexoses sont attaqués presque uniquement par rupture de la liaison entre les atomes de carbone 1 et 2 (34, 54), alors que les cétohexoses sont scindés entre les atomes de carbone 1 et 2 ou 2 et 3 [FLEURY et M^{me} LE DIZET (47)].

Nous avons donc entrepris l'étude de l'oxydation periodique ménagée des diholosides réducteurs dans le but d'identifier et de séparer les différents produits apparaissant au cours de ces dégradations.

Il a tout d'abord été nécessaire, soit d'adapter à nos conditions de travail des techniques maintenant classiques, soit de modifier assez profondément celles-ci, soit enfin d'étudier des méthodes de dosages plus sensibles que celles déjà existantes.

C'est ainsi que, dans la première partie, après un bref rappel des techniques générales d'analyse, nous étudions un microdosage original de l'acide periodique et une technique nouvelle d'élimination des dérivés iodés en relation avec un microdosage du formaldéhyde par la méthode de SCHRYVER (88). La deuxième partie est consacrée à une étude cinétique de l'oxydation de nombreux méthylsides, diholosides réducteurs et non réducteurs.

La troisième partie, s'appuyant sur les conclusions de l'étude cinétique précédente, est consacrée à l'identification des produits d'oxydation de quelques diholosides réducteurs (laminaribiose, maltose, mélibiose et lactose).

La quatrième partie traite de l'oxydation de ces diholosides par l'acide periodique en excès, et comprend une étude de la structure des « polyaldéhydes » obtenus par dégradation de quelques diholosides réducteurs et non réducteurs.

La comparaison de la structure des « polyaldéhydes » déjà isolés, à celle de nouveaux composés, permet de dresser un tableau des produits fournis par quelques glucosido-glucoses.

La cinquième partie est consacrée à l'étude de l'ester formique intermédiaire obtenu par oxydation ménagée du lactose à différents pH, et constitue une tentative ayant pour but de modifier le cours des oxydations periodiques des oses par le contrôle strict du pH du milieu réactionnel.

PREMIÈRE PARTIE

PRÉPARATION DES OLIGOSIDES. PURIFICATION

MÉTHODES GÉNÉRALES D'ANALYSE

**ÉTUDE D'UN MICRODOSAGE COLORIMÉTRIQUE
DE L'ACIDE PERIODIQUE**

**ÉTUDE D'UN MICRODOSAGE COLORIMÉTRIQUE
DU FORMALDÉHYDE**

INTRODUCTION

Avant d'entreprendre l'étude de l'oxydation periodique ménagée des diholosides réducteurs, il est nécessaire de décrire brièvement les procédés généraux qui nous ont permis d'obtenir et de contrôler les matières premières utilisées.

Nous envisagerons successivement la préparation de quelques oligosides. Nous exposerons ensuite les techniques chromatographiques et les techniques quantitatives classiques de dosage de l'acide periodique et des principaux composés obtenus par action de celui-ci sur les osides.

Toutes ces techniques de dosage mettent en jeu des quantités relativement importantes de substance et se sont, dans certains cas, révélées inutilisables par suite des faibles quantités des produits que nous sommes parvenu à isoler.

Nous avons donc été obligé de mettre au point deux microdosages, l'un relatif à l'acide periodique, et l'autre relatif au formaldéhyde.

CHAPITRE PREMIER

PRÉPARATION DE QUELQUES MÉTHYLOSIDES ET DIHOLOSIDES RÉDUCTEURS

1. *Préparation des α - et β -méthyl-D-glucopyranosides.*

La technique utilisée, décrite par JURADO SOLER (66) est voisine de celle proposée par RAYMOND et SCHROEDER (82).

Le principe est le suivant :

Le chauffage à reflux d'une solution méthanolique concentrée d'un ose en présence d'une petite quantité d'acide chlorhydrique fournit l' α - et le β -méthylside correspondants.

La séparation des deux isomères est effectuée par cristallisation en l'absence et en présence d'acétate de potassium.

2. *Préparation de l' α -méthyl-D-xylopyranoside, de l' α -méthyl-D-arabopyranoside, de l' α -méthyl-D-mannopyranoside et de l' α -méthyl-D-galactopyranoside.*

La technique utilisée, décrite par Voss (93), diffère de la précédente par le remplacement de l'acide chlorhydrique par du sulfate de méthyle.

3. *Préparation du laminaribiose.*

Le laminaribiose (β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-glucose) est obtenu par hydrolyse ménagée de la laminarine au moyen d'acide oxalique 1 N suivant une technique voisine de celle décrite par BARRY (15).

L'excès d'acide oxalique est éliminé par addition d'un excès de carbonate de baryum. Après filtration, la solution est concentrée sous vide partiel à une température inférieure à 50° C jusqu'à consistance d'un sirop épais. Ce sirop est repris par le mélange : *n*-butanol-pyridine-eau 2-1-1 (10). La solution ainsi obtenue est chromatographiée sur une colonne de cellulose (50 $\times$ 2,8 cm pour l'hydrolysât correspondant à 10 g de laminarine).

La colonne est lavée par du *n*-butanol (300 ml), puis l'élution s'effectue ensuite à l'aide du mélange : *n*-butanol-pyridine-eau 6-1-1.

L'effluent est collecté par fractions de 50 ml et les portions contenant le laminaribiose sont évaporées à basse température sous pression réduite.

Le laminaribiose est cristallisé dans l'alcool éthylique.

Les fractions souillées de glucose sont réunies et conservées pour un fractionnement ultérieur.

4. Préparation du sophorose.

Le sophorose (β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-D-glucose) est présent dans les fruits de *Sophora Japonica* L. engagé en combinaison avec le Kæmférol.

Ce diholoside résulte de l'hydrolyse ménagée de l'hétéroside contenu dans l'extrait aqueux.

La chromatographie sur colonne de cellulose de cet hydrolysate permet la séparation du diholoside.

La technique d'extraction est identique à celle décrite par CLANCY (31) et le sirop ainsi obtenu est chromatographié sur colonne de cellulose suivant une technique superposable à celle décrite pour le laminaribiose.

5. Préparation de l' α -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-D-arabinose et du β -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-D-arabinose.

Ces deux sucres sont obtenus par oxydation du maltose et du lactose par une solution diluée d'hypochlorite de sodium suivant la technique décrite par WHISTLER et YAGI (95).

6. Préparation de l' α -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-D-érythrose et du β -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-D-érythrose.

L'oxydation ménagée du maltose et du lactose par le tétracétate de plomb suivant le protocole décrit par PERLIN et coll. (28) permet d'obtenir ces deux diholosides à l'état de sirop.

7. Préparation des polyaldéhydes.

Les polyaldéhydes sont préparés par oxydation des osides par l'acide periodique libre suivant la technique mise au point par JURADO SOLER (66).

CHAPITRE II

ANALYSE QUALITATIVE

Les techniques générales relatives à la chromatographie sur papier, sont celles qui sont habituellement utilisées au laboratoire ; nous les mentionnerons succinctement, de manière à exposer les quelques modifications qui leur ont été apportées.

a) *Chromatographie descendante sur papier.*

Nous utilisons le papier Arches 304. C'est le type de papier dont la porosité est la plus appropriée pour donner une migration convenable et suffisamment lente. Il peut être avantageux d'utiliser dans quelques cas le papier Schleicher Schüll n° 2043 BM, qui permet d'obtenir une meilleure résolution des taches.

La migration s'effectue en 12 à 48 heures, suivant les produits chromatographiés et les solvants utilisés. Nous laissons en général le solvant s'écouler au bas des feuilles, selon le procédé indiqué par JERMYN et ISHERWOOD (65).

Solvants utilisés.

Le type de solvant varie avec les composés à chromatographier. Dans le cas des méthylosides, des pentoses, des hexoses et des diholosides, nous nous adressons à des solvants habituellement utilisés au laboratoire.

1. Acétate d'éthyle, acide acétique, eau ; 3-1-3.

Ce solvant est diphasique.

Après 24 heures de repos, la couche supérieure est séparée et la phase aqueuse inférieure rejetée.

2. *n*-butanol, pyridine, eau ; 10-3-3.

Ce solvant est homogène.

3. Les polyaldéhydes résultant de l'oxydation périodique des osides étudiés ont la propriété de donner, avec les solvants envisagés plus haut, des taches plus ou moins étirées.

Il est nécessaire d'utiliser un solvant ayant la composition suivante : *n*-butanol, pyridine, eau ; 10-6-6 (66).

Réactions de révélation.

I. — Révélation générale des oses et des osides.

Tous les corps possédant un groupement oxydable par l'acide periodique ou par le tétracétate de plomb sont révélabes par les deux techniques suivantes :

1. Révélateur au tétracétate de plomb (21) [technique modifiée par PETEK (80)].

Ce révélateur est préparé en dissolvant quelques minutes avant l'emploi le tétracétate de plomb dans l'éthanol pur. Après pulvérisation, la révélation par ce réactif s'effectue déjà à la température du laboratoire, mais il est préférable de chauffer à 105° C pendant deux ou trois minutes. Les corps révélabes donnent des taches blanches sur fond brun. La coloration disparaît assez rapidement.

2. Révélateur periodate-benzidine.

Nous utilisons la technique décrite par CIFONELLI et SMITH (30) qui consiste à pulvériser sur le chromatogramme, successivement, une solution saturée de periodate de potassium, puis une solution alcool-acétonique de benzidine.

On obtient des taches blanches sur fond bleu.

II. — Révélateurs des oses et des polyaldéhydes.

Nous avons utilisé des réactions basées sur la propriété des oses, de fournir à chaud et sous l'action d'un acide, des dérivés furfuriques qui peuvent par combinaison avec des amines ou des phénols, développer des colorations variées.

Les polyaldéhydes provenant de l'oxydation periodique des osides réducteurs ou non réducteurs, fournissent dans des conditions identiques, une coloration rose spécifique [JURADO SOLER (66)].

Nous utilisons un révélateur contenant de la β -naphtylamine suivant la technique décrite par NOVELLIE (75) [modifiée par PETEK (80)].

La composition du révélateur est la suivante :

β -naphtylamine	0,10 g
Thymol	1,00 g
Ethanol 80°	150 ml
Acide orthophosphorique (d = 1,17)	2 ml

Des taches colorées apparaissent par chauffage à 105° pendant 5 minutes. Les pentoses se colorent en brun rouge, les cétooses fournissent une teinte jaune clair très nette, les aldohexoses et les holosides renfermant ces derniers sucres dans leur molécule donnent des taches brunes.

Sur le chromatogramme séché, le réactif est pulvérisé finement. Le séchage s'effectue à l'étuve à 105° C, pendant 5 minutes.

b) Chromatographie circulaire sur papier.

Nous utilisons deux sortes de papier : un papier épais (Whatman 17) et un papier plus fin (Arches 304).

Ces papiers sont découpés en disques de 23 cm ou de 13 cm de rayon.

Matériel.

Le matériel utilisé est de deux sortes : pour les disques de 13 cm de rayon, nous utilisons un dispositif classique pour chromatographie circulaire.

Dans le cas de disques de 23 cm de rayon, l'appareil est constitué de deux plaques de glace d'une épaisseur de 15 mm en forme de carré de 50 cm de côté, percées en leur milieu d'un orifice de 15 mm de diamètre, pouvant être obturé par un bouchon de matière plastique.

Une de ces plaques est dépolie sur une face, laquelle repose sur un récipient cylindrique de 20 cm de diamètre et de 15 cm de hauteur dont les bords sont rodés.

Le papier, au centre duquel est déposée la substance à chromatographier, est muni en son centre d'une mèche de papier enfoncée à frottement doux.

Le disque est serré entre les deux plaques de glace et la mèche trempe dans un solvant approprié.

La migration est arrêtée lorsque le front du liquide se trouve à environ 1 à 2 cm du bord.

Solvant utilisé.

L'unique solvant utilisé est constitué du mélange suivant : toluène, éther de pétrole, alcool éthylique, eau ; 170-100-30-1.

La chromatographie circulaire est utilisée à deux fins :

1. Pour identifier, d'une part les colorants obtenus lors de la réaction colorée de l'acide periodique et, d'autre part, les hydrazones et les osazones préparées à partir des produits d'oxydation periodique des différents diholosides.

2. Pour séparer ces différentes osazones et hydrazones dans les cas où la chromatographie sur alumine ne permet pas une résolution satisfaisante. Il est alors nécessaire de procéder à une élution des différentes taches dans le but de récupérer les produits chromatographiés.

Nous procédons de la manière suivante :

Ces composés colorés sont faciles à repérer. Il suffit de découper soigneusement le chromatogramme et de réunir les fractions identifiées ; le papier est réduit en poudre à l'aide d'un broyeur et la poudre ainsi obtenue est soumise à une macération dans l'alcool absolu pendant quelques heures. Les liqueurs de macération sont récupérées par filtration et expression de la pâte de papier sur un creuset en verre fritté. Ces solutions alcooliques sont concentrées sous vide partiel jusqu'à un très faible volume, puis ensuite évaporées à sec dans un dessiccateur contenant de l'anhydride phosphorique. Ce procédé permet d'obtenir des fractions cristallisées susceptibles d'être soumises aux analyses ultérieures. Il peut être nécessaire, dans certains cas, de procéder à une nouvelle cristallisation dans le benzène et l'éther de pétrole.

c) *Chromatographie sur colonne de cellulose.*

Au cours de ce travail, nous avons été amenés à isoler les produits formés au cours d'oxydations ménagées du lactose. Dans le but de séparer les diholosides possédant respectivement 10 à 11 atomes de carbone, nous avons repris la technique qui nous a permis dans un travail antérieur, de séparer les composés intermédiaires formés au cours de l'oxydation ménagée du sorbitol et du mannitol (54).

Nous procédons de la manière suivante :

Les produits d'oxydation sont débarrassés de l'acide iodique et concentrés sous vide partiel jusqu'à consistance de sirop.

Dans une allonge en verre munie à son extrémité inférieure d'un robinet rodé, est introduite une suspension aqueuse de poudre de cellulose Whatman (standard grade) jusqu'à obtention après tassement régulier, d'une colonne dont les dimensions sont indiquées plus loin (oxydation du lactose). La colonne est lavée avec environ 2 000 ml d'eau et 5 000 ml de solvant. A ce moment la colonne est prête à l'emploi. Le solvant utilisé : acétate d'éthyle, acide acétique, eau distillée ; 20-5-1, est monophasique.

Le liquide sirupeux est versé à la partie supérieure de la colonne. Après absorption, le solvant est ajouté et le débit de la colonne est réglé à la vitesse qui est indiquée plus loin (oxydation du lactose). L'effluent est collecté par fractions ; une partie aliquote de ces fractions est prélevée, évaporée à basse température, et soumise à une chromatographie descendante sur papier. Les différentes fractions donnant des taches identiques sont réunies, évaporées sous vide et décolorées sur charbon.

d) *Chromatographie sur alumine.*

La chromatographie sur alumine est utilisée pour purifier le colorant extrait des solutions provenant de la réaction colorée de l'acide periodique et pour séparer les différentes osazones et hydrazones préparées à partir des produits d'oxydation ménagée des osides étudiés.

Dans tous les cas, nous utilisons l'alumine Brockmann 1 (Merck référence n° 1097).

L'alumine est versée dans le solvant qui servira à l'élution ultérieure.

Après un lavage de la colonne ainsi préparée à l'aide d'environ 1 000 ml du solvant qui servira à l'élution, les composés à chromatographier sont introduits sur la colonne en solution benzénique.

L'effluent est collecté par fractions.

CHAPITRE III

ANALYSE QUANTITATIVE

Dans ce chapitre, nous exposerons particulièrement les techniques se rapportant au dosage de l'acide periodique et des produits apparaissant généralement lors de l'action de cet oxydant sur les glucides.

En outre, nous mentionnerons à la fin de cet exposé, les protocoles que nous ont permis de mesurer quelques constantes physiques des produits originaux que nous avons préparés.

a) *Détermination de la quantité d'acide periodique consommé par la technique de Fleury et Lange (46).*

En milieu aqueux, tamponné par un excès de carbonate acide de potassium et en présence d'iodure de potassium comme catalyseur, l'acide periodique oxyde régulièrement l'acide arsénieux en acide arsénique, alors que dans ces conditions, l'acide iodique ne réagit pas.



Une prise d'essai convenable est traitée par une quantité en excès d'acide periodique libre en solution aqueuse 0,05 M environ.

Un témoin obtenu en remplaçant la solution à doser par un égal volume d'eau distillée est préparé dans les mêmes conditions.

Les deux solutions sont laissées en repos pendant un minimum de 30 minutes à la température du laboratoire.

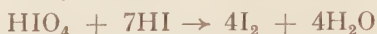
Les deux échantillons sont neutralisés par un excès de carbonate acide de potassium, additionnés d'une même quantité de solution d'anhydride arsénieux 0,1 N et de XX gouttes de solution d'iodure de potassium à 20 %.

Après 20 minutes de contact, l'excès d'anhydride arsénieux, qui n'a pas réagi, est dosé à l'aide d'une solution d'iode 0,1 N dans chacun des essais.

La quantité d'acide periodique consommé, exprimée en millilitres de solution (0,05 M), correspond à la différence entre les quantités d'iode consommées par les deux essais.

b) *Détermination de la quantité d'acide periodique consommé par la technique de Malaprade (67).*

Le dosage de l'acide periodique consommé à un moment donné est obtenu après arrêt de la réaction par un mélange d'iodure de potassium-acide acétique. Dans ces conditions, l'acide periodique en excès et l'acide iodique formé sont immédiatement et totalement réduits avec libération d'iode.



L'iode libéré est dosé par une solution de thiosulfate de sodium de titre approprié. Un essai témoin est réalisé en substituant à la solution d'oside, une quantité équivalente d'eau distillée. Le titrage dans les mêmes conditions permet, par une simple différence, le calcul de la quantité d'acide periodique réduit.

c) *Dosage des corps libérés lors des oxydations.*

1. *Dosage de l'acide formique.*

Nous avons utilisé la méthode classique à l'éthylèneglycol.

Lorsqu'une molécule d'acide periodique oxyde une molécule d'éthylène glycol, cette dernière est scindée et déshydrogénée en deux molécules de formaldéhyde ; il n'y a libération d'aucune molécule d'acide ; l'acide periodique est transformé en acide iodique.



Si, parallèlement, essai et témoin préparés dans les mêmes conditions sont traités par un excès d'éthylèneglycol, l'acidité relative à l'acide iodique est identique dans les deux essais, et la différence d'acidité est uniquement en fonction des acides libérés par l'oxydation.

Nous mettons en contact les corps à oxyder avec l'acide periodique en excès, et préparons un témoin en substituant un égal volume d'eau distillée à la solution du corps à oxyder. Après une durée de contact variable, le témoin et l'essai sont traités par 1 ml d'éthylèneglycol. Après un temps de contact variable suivant les cas, l'acidité développée est dosée par la soude 0,1 N en présence d'indicateur de Tashiri (rouge de méthyle-bleu de méthylène). La différence entre les quantités de soude consommées par l'essai et le témoin correspond directement à l'acide formique libéré par l'oxydation periodique.

2. *Dosage du formaldéhyde.*

Nous avons employé la technique reposant sur la précipitation du formaldéhyde par la 3-3'-diméthylcyclohexadione (dimédon).

Le produit d'oxydation est additionné d'une quantité suffisante de solution d'iodure de potassium à 20 % et d'acide chlorhydrique 2 N pour libérer la totalité de l'iode. Cet iode est alors réduit par un excès de solution d'anhydride arsénieux, environ 0,5 N à pH 4,6. Après contact

de 30 minutes, le pH est amené au voisinage de 4,6 au moyen de soude 1 N environ, en présence de rouge de méthyle ; il est nécessaire de passer au virage de l'indicateur au jaune avec la soude, et de revenir en arrière avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique. Le milieu est alors tamponné à pH 4,6, par addition de 60 à 75 ml de la solution :

Acétate de sodium 1 M	100 ml
Acide chlorhydrique 1 N	48 ml

Après addition d'une quantité de solution aqueuse à 5 g par litre (ou saturée) de dimédon, égale à la quantité du tampon utilisée, puis précipitation de 12 heures au minimum, le précipité est recueilli sur filtre en verre fritté G3, abondamment lavé à l'eau distillée et séché pendant 24 heures, à une température inférieure à 70° C. Le point de fusion instantané du précipité doit être vérifié par rapport à un précipité témoin, obtenu dans les mêmes conditions à partir d'une solution aqueuse de formaldéhyde. Il est nécessaire de vérifier le point de fusion du mélange dosage-témoin (189°).

3. *Dosage des fonctions aldéhydes libres.*

Nous avons utilisé la réaction de SCHIFF : la fuchsine décolorée par l'anhydride sulfureux, donne à froid, avec la plupart des aldéhydes, une coloration rouge violacé.

Nous avons suivi la technique décrite par PAQUIN (76). La réaction colorée s'effectue en ajoutant à la solution à examiner acidifiée à pH 3, 0,1 ml de réactif de SCHIFF, préparé selon la formule de VAN OSS (92). Les tubes sont agités, bouchés et laissés au repos à la température du laboratoire pendant 3 heures.

L'intensité de la coloration est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre, pour la longueur d'onde de 560 millimicrons, comparativement à un essai à blanc, et par rapport à des essais contenant des quantités connues de formaldéhyde.

d) *Détermination de quelques propriétés physiques.*

1. *Détermination des poids moléculaires.*

La détermination des poids moléculaires s'effectue par cryoscopie en milieu aqueux, suivant la technique habituelle.

Les solutions utilisées qui ont une concentration voisine de 2-3 %, sont préparées par pesée exacte des produits desséchés sous vide à une température de 60° C en présence d'anhydride phosphorique.

2. *Détermination des pouvoirs rotatoires.*

Les pouvoirs rotatoires sont mesurés sur des solutions préparées par pesée exacte des polyaldéhydes séchés sous vide en présence d'anhydride phosphorique (concentrations voisines de 1,5 %) pour la raie jaune de sodium à l'aide d'un tube polarimétrique de 2 dm, pour une température de 20° C.

CHAPITRE IV

ÉTUDE D'UN MICRODOSAGE COLORIMÉTRIQUE DE L'ACIDE PERIODIQUE

INTRODUCTION

Les techniques classiques de dosage de l'acide periodique ne permettent pas l'évaluation de quantités très faibles de cet oxydant. Dans la suite de ce travail, nous avons été amené, dans le but de déterminer la structure de différents diholosides, à oxyder de très faibles quantités de substance pour lesquelles les méthodes classiques se trouvaient en défaut.

Récemment, SCHIFFMAN, KABAT et LESKOWITZ (86) ont décrit une technique iodométrique de dosage de l'acide periodique consommé lors de l'oxydation de très petites quantités d'oligosaccharides ; mais leur procédé qui permet d'évaluer une consommation d'acide periodique de l'ordre de 8 micromoles, est assez délicat à mettre en œuvre et nécessite un appareillage d'ultra-microanalyse.

La technique spectrophotométrique pour la longueur d'onde de 222,5 millimicrons, décrite par ASPINALL et FERRIER (8) présente l'inconvénient d'utiliser l'ultraviolet lointain, région du spectre où les interférences dues à de nombreuses substances sont extrêmement importantes. L'oscillopolarographie permet, elle aussi, de doser de petites quantités d'acide periodique suivant les techniques mises au point par BERKA et DOLEZAL (17, 18). Ces procédés nécessitent un appareillage qui ne se trouvait pas à notre disposition au moment où ont été effectuées ces recherches. Nous avons donc mis au point une technique colorimétrique de dosage de l'acide periodique.

Il est connu depuis longtemps que de nombreuses amines cycliques sont très sensibles aux réactifs oxydants avec lesquels elles donnent naissance à des composés colorés. Ces réactions sont soumises à de nombreux facteurs extérieurs qui conditionnent leur évolution dans le temps. Dans la plupart des cas, il est donc impossible de les utiliser à des fins quantitatives.

La détection de l'acide periodique, suivant la technique de CIRONELLI et SMITH (30) utilise son pouvoir oxydant vis-à-vis de la benzidine et, dans une modification, vis-à-vis de l'O-toluidine. La réalisation de ces réactions en phase liquide s'accompagne d'une évolution de la coloration au cours du temps rendant impossible tout dosage spectrophotométrique. L'essai de très nombreuses amines aromatiques nous a fait choisir l'O-dianisidine (3-3'-diméthoxybenzidine). L'utilisation analytique de cette amine aromatique est déjà ancienne ; les chromates l'oxydent régulièrement (4) et cette propriété est utilisée par BUSCARONS et coll. (26, 27) pour le dosage oxydimétrique indirect de la cystéine. Ces mêmes auteurs, dans le but de doser la cystéine, ont montré que le ferricyanure de potassium fournit avec ce réactif, une coloration possédant un maximum d'absorption pour la longueur d'onde de 470 millimicrons (5, 6).

Enfin, dans la plupart des dosages enzymatiques mettant en jeu la formation de peroxyde d'hydrogène, celui-ci est dosé par oxydation de l'O-dianisidine qui donne naissance à des composés colorés (2).

TRAVAUX PERSONNELS

I. — *Etude quantitative de la réaction.*

A. TECHNIQUE.

Malheureusement, la stabilité de la coloration est extrêmement difficile à obtenir. Ce problème a été étudié récemment par GUIDOTTI et coll. (55). Ils préconisent une extraction du colorant par l'isobutanol et colorimétrie de la phase organique. Des essais préliminaires ont montré que l'acide periodique réagit régulièrement sur l'O-dianisidine en donnant une coloration orangée, l'acide iodique ne réagissant lui-même que beaucoup plus difficilement.

De nombreux essais nous ont conduit à adopter la technique que nous exposerons maintenant et nous ne discuterons qu'ensuite des raisons qui nous ont guidé dans le choix du protocole opératoire proposé.

La réaction s'effectue en milieu strictement tamponné en présence de *n*-butanol et de *n*-propanol. Le réactif se compose d'un tampon dans lequel est ajoutée la solution du réactif colorant.

Le tampon a la composition suivante :

Diéthylmalonylurée sodique	10 g
Eau bidistillée	1 000 ml
<i>n</i> -propanol	130 ml
<i>n</i> -butanol	70 ml

La diéthylmalonylurée sodique est dissoute dans l'eau distillée, le propanol puis le butanol sont ajoutés et, après agitation, le pH est amené à $7,15 \pm 0,10$ à l'aide d'acide acétique redistillé dilué au demi dans l'eau bidistillée (le pH est mesuré électrométriquement). Le réactif

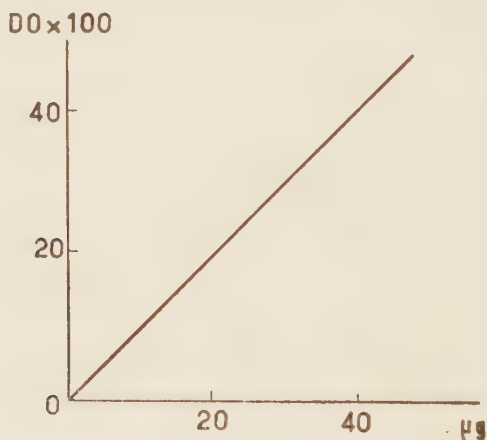
final est obtenu en ajoutant à 100 ml de ce tampon, 2 ml d'une solution acétonique récente à 25 mg/ml d'O-dianisidine fraîchement recristallisée dans l'alcool à 50 %. Pendant l'affusion de cette solution, il est nécessaire d'agiter très vigoureusement la phase aqueuse de manière à éviter une recristallisation éventuelle de l'O-dianisidine. Le mélange est filtré rapidement sur papier, puis utilisé immédiatement.

La quantité d'acide periodique par prise d'essai doit être comprise entre 0,1 et 1 μM .

Le volume de cette prise d'essai est amené à 10 ml à l'aide d'eau bidistillée, puis à 50 ml avec le réactif colorant. Après agitation et repos à l'obscurité, la lecture s'effectue entre 20 et 50 minutes à l'aide d'un spectrophotomètre pour la longueur d'onde de 445 $\text{m}\mu$, en utilisant des cuves de 2 cm d'épaisseur, en réglant le zéro de l'appareil sur un mélange de référence constitué par 10 ml d'eau bidistillée et 40 ml de réactif colorant. Une courbe d'étalonnage est établie conjointement à partir d'une solution d'acide periodique de référence, les quantités d'acide periodique étant comprises entre 0,1 et 1 μM .

TABLEAU I

Intensité de la coloration pour des quantités croissantes d'acide periodique



Comme nous le verrons plus loin, dans les conditions opératoires décrites, l'acide iodique ne donne aucune coloration si la quantité mise en réaction reste inférieure à 75 μM par prise d'essai et si le pH du milieu réactionnel reste compris entre 7,05 et 7,25. Dans le cas où la solution à doser est particulièrement acide, et de ce fait risque de modifier le pH final du milieu, il est nécessaire de procéder à une neutralisation préalable à l'aide de soude diluée. Dans ces conditions, la représentation graphique de cette réaction colorée se traduit par une droite comme l'indique le tableau I.

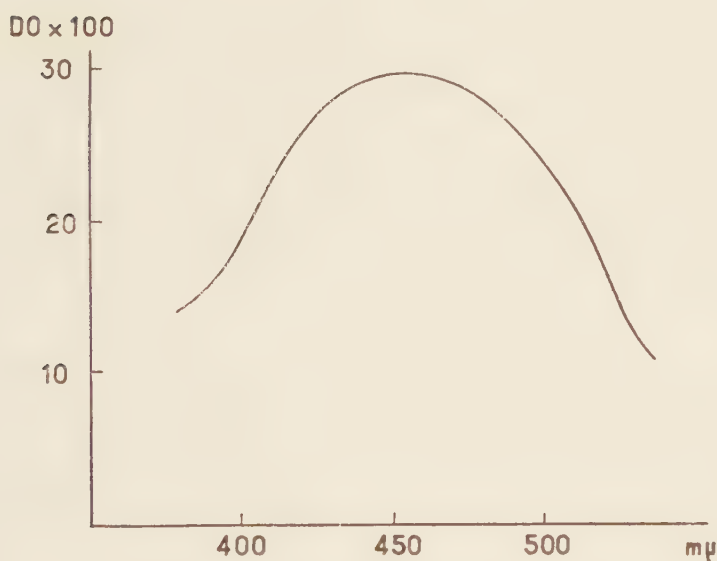
B. DISCUSSION DES RÉSULTATS.

1. *Choix de la longueur d'onde.*

Le tableau II représente le spectre de la coloration. Il faut remarquer que la courbe représentative du spectre de cette coloration est relativement aplatie ; de ce fait la lecture peut s'effectuer sans grand inconvénient pour les longueurs d'onde comprises entre 435 et 450 m μ .

Nous verrons dans la suite que l'extraction du colorant a permis de démontrer qu'en solution alcoolique, le maximum d'absorption se situe à la longueur d'onde de 435 m μ .

TABLEAU II
Spectre de la coloration



2. *pH du milieu réactionnel.*

L'influence du pH du milieu réactionnel vis-à-vis de l'intensité de la coloration et vis-à-vis de la stabilité de cette coloration est importante.

Le tableau III indique l'intensité des colorations obtenues en fonction de la valeur du pH du milieu réactionnel (entre 7,15 et 7,95).

L'augmentation du pH se traduit par un abaissement de l'intensité de la coloration. Ce phénomène est d'autant plus sensible que la concentration en acide periodique augmente ; par exemple, pour une concentration de 0,8 μ M, l'abaissement d'intensité est déjà de 7 % pour un tampon de pH 7,45, alors qu'elle est de 10 % pour un tampon de pH 7,95.

En résumé, pour les pH supérieurs à 7,15, la représentation graphique ne fournit plus une droite si les concentrations en acide periodique s'élèvent au-dessus de 0,7 μ M par prise d'essai.

TABLEAU III

Variation de l'intensité (D.O.) de la coloration en fonction du pH du milieu réactionnel

μ M d'acide periodique	pH = 7,15	pH = 7,45	pH = 7,95
0,2	0,075	0,070	0,065
0,4	0,150	0,140	0,132
0,6	0,217	0,208	0,200
0,8	0,305	0,282	0,267
1,0	0,385	0,337	0,315

Volume réactionnel : 50 ml. Temps de réaction : 40 minutes.

Pour les pH inférieurs à 7, il n'est plus possible d'utiliser la diéthylmalonylurée pour tamponner le milieu, étant donné la valeur du pK de cette substance ; il est nécessaire de s'adresser à des tampons d'une autre nature et en particulier, à des tampons phosphates qui ne sont absolument plus compatibles avec cette réaction colorée comme nous le verrons plus loin.

3. Composition du tampon.

L'examen du tableau IV dans lequel sont consignés les résultats obtenus avec des solutions tamponnées à pH 7,15, l'une avec le tampon habituel, et l'autre avec un tampon à base de phosphate de sodium, montre que l'intensité de la coloration en tampon phosphate est de 15 % inférieure à celle que l'on obtient en tampon barbital.

TABLEAU IV

Intensité de la coloration (D.O.) en fonction de la nature du tampon à pH 7,15

μ M d'acide periodique	Tampon phosphate	Tampon barbital
0,2	0,063	0,075
0,4	0,127	0,150
0,6	0,185	0,217
0,8	0,260	0,305
1,0	0,325	0,385

Volume réactionnel : 50 ml. Temps de réaction : 40 minutes.

Le remplacement de l'acide acétique par un acide minéral, amène une interférence très notable de l'acide iodique.

Il en résulte donc que la présence de diéthylmalonylurée et d'acide acétique est indispensable au bon développement de la coloration.

4. Nature des alcools.

La concentration en *n*-butanol est limitée par sa solubilité en milieu aqueux. En effet, la saturation correspond à une concentration de 8 % environ. L'abaissement de concentration en *n*-butanol amène une précipitation du colorant et rend de ce fait la lecture photométrique impossible.

Nous avons d'autre part, fait varier la concentration en *n*-propanol. L'abaissement du titre en *n*-propanol entraînant, comme l'abaissement du titre en *n*-butanol, un précipité du colorant, doit être exclu pour la même raison.

TABLEAU V

Variation de l'intensité (D.O.) de la coloration en fonction de la concentration en *n*-propanol

μM d'acide periodique	<i>n</i> -propanol 20 %	<i>n</i> -propanol 13 %
0,2	0,077	0,075
0,4	0,148	0,150
0,6	0,215	0,217
0,8	0,300	0,305
1,0	0,345	0,385

pH : 7,15. Tampon : barbital. Volume réactionnel : 50 ml. Temps de réaction : 40 minutes.

L'augmentation de concentration en propanol (20 %) (tabl. V) entraîne pour les concentrations en acide periodique supérieures à 0,8 μM , un abaissement de l'intensité de la coloration ; de plus la représentation graphique de l'intensité de cette coloration en fonction de la concentration, ne se traduit plus par une droite.

Nous avons tenté dans une autre série d'expériences, de remplacer le *n*-propanol par de l'isopropanol. Dans ces conditions, on obtient une forte diminution de la coloration. Son remplacement par des alcools de poids moléculaires plus faibles (éthanol ou méthanol) inhibe presque totalement la réaction.

L'utilisation d'alcools de poids moléculaires plus élevés est rendue impossible du fait de leur faible solubilité.

5. Concentration en acétone.

L'augmentation de concentration en acétone diminue fortement la coloration, exactement comme nous l'avons observé lors de l'utilisation d'alcools de faibles poids moléculaires. La diminution de concentration rend pratiquement impossible la préparation du réactif colorant. C'est

la raison pour laquelle nous avons fixé la quantité à 2 ml pour 100 ml de tampon. Dans ces conditions, la coloration n'est pas inhibée.

6. Concentration en O-dianisidine.

L'augmentation de concentration en O-dianisidine amène très rapidement une recristallisation de celle-ci et la filtration qu'il est alors nécessaire d'effectuer avant la lecture photométrique, entraîne une adsorption du colorant sur les filtres.

En revanche, la diminution de concentration entraîne une inflexion très notable de la courbe, d'autant plus intense que la concentration en O-dianisidine diminue.

Comme nous le verrons dans la suite, lors de l'isolement des colorants, ce phénomène s'explique par le fait qu'il n'y a plus formation d'un seul composé coloré, mais de deux ou de trois composés dérivant les uns des autres par oxydation ; la mise en évidence s'effectue par chromatographie.

De plus, la réaction est d'autant plus lente que la concentration en O-dianisidine diminue. La réaction ne peut donc se développer dans des conditions favorables que pour des teneurs en amine voisines de la saturation.

7. Interférence due à l'acide iodique.

Dans la deuxième colonne du tableau VI, sont consignées les densités optiques relatives à des solutions contenant des quantités croissantes d'acide periodique.

La troisième colonne correspond aux mêmes quantités d'acide periodique en présence d'une surcharge d'acide iodique égale à 20 μM .

TABLEAU VI
Influence de l'acide iodique

μM d'acide periodique	D.O. sans acide iodique	D.O. avec surcharge de 20 μM d' HIO_3
0,2	0,075	0,075
0,4	0,150	0,148
0,6	0,217	0,220
0,8	0,305	0,305
1,0	0,385	0,380

pH : 7,15 — Tampon barbital. Volume réactionnel: 50 ml. Temps de réaction 40 minutes.

Pour des concentrations inférieures à 75 μM par prise d'essai, l'acide iodique n'interfère pratiquement pas, à condition toutefois que le pH du milieu réactionnel reste dans les limites que nous avons fixées plus haut.

8. Spécificité de la réaction.

Nous avons vérifié que les principaux composés libérés au cours d'oxydations periodiques n'interfèrent pas.

En particulier, le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, le glycolaldéhyde, les acides formique et acétique, ne modifient pas la coloration quelles que soient leurs concentrations.

Les oses et les osides n'ont aucune influence sur la réaction.

9. Précision du dosage.

Le tableau VII résume les résultats des principaux essais effectués.

TABLEAU VII

Pourcentage d'erreur enregistré dans le dosage de l'acide periodique consommé par divers composés

Substance oxydée		Quantité d'acide periodique consommée en μM		Erreurs
Nature	Quantité en mg	Calculé	Trouvé	
Sorbitol	1,315	36,15	36,50	+ 1 %
Glucose	1,625	45,15	46,50	+ 3 %
Méthylglucoside	1,505	15,50	15,50	0 %
Mannitol	1,140	31,25	30,35	— 3 %
Mannitol	2,90	79,65	78,85	— 1 %
Xylose	3,75	99,95	102,5	+ 2,5 %
Galactose	1,030	28,55	27,75	— 3 %

Nous oxydons les quantités d'osides indiquées (2^e colonne) par une quantité d'acide periodique égale à 1,5 fois la quantité nécessaire pour dégrader totalement le composé envisagé.

Après dilution convenable, nous dosons l'acide periodique n'ayant pas réagi ; connaissant la quantité d'oxydant mise en jeu, nous calculons par simple différence la quantité d'acide periodique réduit.

La troisième colonne indique les quantités d'acide periodique théoriquement réduites, et la quatrième colonne, les quantités d'acide periodique réellement consommées. Dans la dernière colonne sont consignées les erreurs relatives enregistrées au cours de ces dosages.

Ainsi, pour des titrages effectués avec des quantités d'oses, d'osides et de polyols, comprises entre 5 et 25 μM , la limite d'erreur reste toujours inférieure à $\pm 3 \%$.

II. — Identification du colorant.

ASKNES et SANDBERG (7) ont montré qu'en milieu alcalin et en présence d'acétylcholine, les solutions de peroxyde d'hydrogène oxydent l'O-dianisidine, en donnant trois composés qu'ils ont isolés et caractérisés :

3-3'-diméthoxy-4-amino-4'-nitrobiphényle, 3-3'-diméthoxy-4-amino-4'-nitrosobiphényle et bis-(3-3'-diméthoxy-4-amino)-azobiphényle.

Dans nos conditions opératoires, nous avons identifié le composé coloré formé au bis-(3-3'-diméthoxy-4-amino)-azobiphényle.

PROTOCOLES ANALYTIQUES.

— *Chromatographie sur papier.*

A partir d'un produit d'oxydation contenant 0,75 μ M pour 50 ml de produit réactionnel, le colorant est extrait par un excès de *n*-butanol ; après décantation, la phase organique est séchée au moyen de sulfate de sodium anhydre. Le produit en chromatographie circulaire sur papier migre comme le bis-(3-3'-diméthoxy-4-amino)-azobiphényle préparé suivant la technique décrite par ASKES et SANDBERG, pris comme substance de référence. Il est absolument essentiel d'évaporer la solution déposée sur le chromatogramme à l'aide d'un courant d'azote.

— *Extraction du colorant.*

En solution ce colorant étant relativement sensible à l'oxydation, il est nécessaire d'opérer le plus rapidement possible et d'effectuer toutes les évaporations sous atmosphère d'azote.

D'autre part, l'extraction sélective de ce composé par des solvants organiques est rendue impossible par la présence dans le milieu réactionnel de barbital en grande quantité et d'O-dianisidine non oxydée : il a été impossible d'obtenir une extraction sélective de ces différents produits par des solvants organiques. La séparation de ces produits n'est réalisable que par chromatographie.

La technique utilisée est la suivante :

La très faible concentration en colorant du milieu réactionnel requiert l'utilisation de volumes importants de mélange (20 litres d'un milieu réactionnel 15 μ M en acide periodique). Après 20 minutes de réaction, cette solution est chromatographiée sur colonne de cellulose (70 $\times$ 400 mm) (Whatman standard grade) en s'aidant du vide, de manière à effectuer cette manipulation le plus rapidement possible.

La colonne est ensuite lavée, tout d'abord avec 2 litres d'eau distillée puis à l'aide de solutions d'alcool éthylique de titre croissant (1 litre à 10 %, puis 1 litre à 20 %, puis par fractions de 1 litre, en augmentant le titre de 10 % chaque fois). Cette opération est arrêtée lorsque le premier effluent présente une coloration jaune sensible.

Dans ces conditions, la majeure partie du barbital et de l'O-dianisidine qui n'a pas réagi est éliminée ; la colonne est essorée puis la poudre de papier ayant fixé le colorant est séchée sous vide en présence de chlorure de calcium. Lorsque la poudre est sèche, celle-ci est épuisée par l'acétone anhydre jusqu'à ce que les liquides d'extraction ne présentent plus de coloration. Les liqueurs acétoniques sont ensuite évaporées sous courant d'azote en réchauffant très légèrement la solution au bain-marie. Le résidu est ensuite repris par du benzène pur pour chromato-

graphie et purifié par un dernier passage sur colonne d'alumine Brockmann n° 1. L'élution s'effectue à l'aide de benzène. Les liqueurs benzéniques contenant le colorant sont concentrées sous courant d'azote jusqu'à un faible volume. L'addition d'hexane entraîne la cristallisation du produit après repos de quelques jours au voisinage de 0° C. Ces cristaux, chromatographiés sur papier comme il est décrit précédemment, donnent une tache homogène.

Le spectre dans le visible (solution dans l'éthanol) et le spectre infrarouge (en pastilles de bromure de potassium) sont examinés.

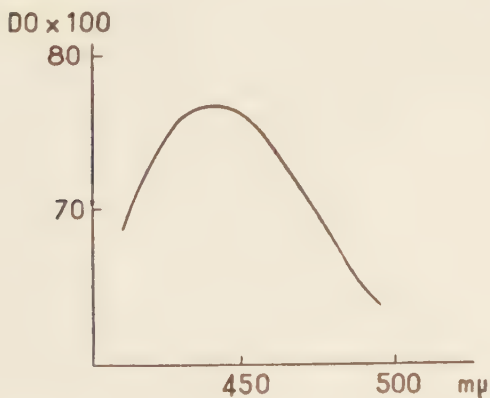
RÉSULTATS.

La chromatographie circulaire sur papier du produit provenant de l'extraction directe d'un milieu réactionnel, montre qu'il ne se forme qu'un seul colorant ; celui-ci, après purification et cristallisation, présente un point de fusion de 244° (tube capillaire) conforme à celui mentionné par ASKNES et SANDBERG (240°).

Le spectre dans le visible (tabl. VIII) présente un maximum d'absorption pour la longueur d'onde de 435 m μ , en accord avec le maximum annoncé par ASKNES et SANDBERG.

TABLEAU VIII

Spectre du bis-(3-3'-diméthoxy-4-amino)-azobiphényl
(Solution dans l'éthanol)



Le spectre infrarouge présente deux bandes de faible intensité pour les longueurs d'onde de 2,98 et 2,91 μ , relatives aux groupements NH₂, et une bande intense pour la longueur d'onde de 6,23 μ , correspondant à la liaison N = N ; ces résultats sont en accord avec les caractéristiques du spectre infrarouge obtenu par ASKNES et SANDBERG.

Nous avons réussi, en appliquant la technique décrite par MOIR (73), à préparer du bis-(3-3'-diméthoxy-4-amino)-azobiphényl en très faible quantité.

Le spectre infrarouge de l'échantillon ainsi préparé est superposable à celui obtenu avec notre produit.

Tous ces résultats permettent de conclure que dans la réaction décrite ci-dessus, il se forme un colorant unique identifié au bis-(3-3'-diméthoxy-4-amino)-azobiphényl.

CONCLUSIONS.

Cette réaction colorée est utilisable dans la forme décrite pour des concentrations en acide periodique comprises entre 0,1 et 1 μM dans 10 ml de solution à doser. Dans ces conditions, une concentration égale à 75 μM d'acide iodique dans le même volume de solution, n'amène aucune interférence.

Sa réalisation requiert plusieurs conditions indispensables :

1. le pH du milieu réactionnel doit être égal à 7,15 ($\pm 0,10$) ;
2. la présence de *n*-butanol et de *n*-propanol est indispensable ; leurs concentrations respectives doivent être égales à 7 % et à 13 % ;
3. la concentration en O-dianisidine doit être très voisine de la saturation (50 mg pour 100 ml de tampon).

Des dosages témoins effectués avec des concentrations d'oses ou de polyols, comprises entre 5 et 25 μM , ont montré que les erreurs restent toujours inférieures à ± 3 %.

Les composés formés au cours des oxydations periodiques des oses et des osides n'interfèrent pas.

L'acide periodique oxyde l'O-dianisidine en donnant, dans nos conditions opératoires, un seul et unique colorant, le bis-(3-3'-diméthoxy-4-amino)-azobiphényl qui a été caractérisé.

Par réduction des volumes des réactifs mis en jeu, il est possible de doser des quantités d'acide periodique égales à 10^{-2} μM par prise d'essai.

CHAPITRE V

DOSAGE DU FORMALDÉHYDE

INTRODUCTION

Les différentes techniques de dosage du formaldéhyde peuvent être classées en trois catégories :

a) Titrimétrie.

Le formaldéhyde en milieu alcalin réduit les sels de métaux lourds en fournissant le métal correspondant qui peut être dosé par iodométrie (sels de mercure par exemple).

b) Gravimétrie.

En présence de dimédon (diméthyl-3-3'-cyclohexanedione) le formaldéhyde donne naissance à un précipité très insoluble susceptible d'être isolé et pesé. Bien que cette gravimétrie soit extrêmement favorable, puisque 30 mg de formol fournissent 292 mg de précipité dimédonique, et bien que cette réaction soit beaucoup plus spécifique que la précédente, son utilisation se révèle très délicate lorsque la concentration du milieu réactionnel en aldéhydes aliphatiques de faibles poids moléculaires (acétaldéhyde, glycolaldéhyde) dépasse un certain pourcentage (54).

L'autre inconvénient de cette technique réside dans le fait qu'elle requiert des quantités relativement importantes de formaldéhyde ; partant, les oxydations nécessitent obligatoirement des quantités assez grandes d'ose ou d'oside, quantités d'autant plus importantes que ces derniers libèrent peu de formaldéhyde.

Dans ces conditions, cette technique s'est révélée inapplicable dans la majorité des cas que nous avons rencontrés.

c) Colorimétrie.

Deux réactions colorimétriques sont habituellement employées : la première utilise l'acide chromotrope et la seconde la phénylhydrazine et le ferri cyanure de potassium [SCHRUYER (88)].

Les techniques à l'acide chromotrope requièrent une élimination préalable des acides iodique et periodique qui interfèrent. Cette élimination

se réalise par réduction des composés oxygénés de l'iode sous l'influence de sulfite neutre ou de sulfite acide de sodium.

L'excès de réducteur est détruit, soit par acidification du milieu et dégazage pour chasser l'anhydride sulfureux ainsi formé, soit par chauffage à température élevée (200°) en présence d'acide chromotrope qui fixe le formaldéhyde (20).

La distillation est aussi utilisée, mais nécessite des quantités non négligeables de formaldéhyde et entraîne la mise en œuvre de manipulations relativement délicates.

Le déplacement du formaldéhyde et sa captation par l'acide chromotrope dans des cellules de CONWAY donnent des rendements peu compatibles (54) avec un dosage quantitatif.

La technique de SCHRYVER (88) repose sur le principe suivant :

Le formaldéhyde réagit avec la phénylhydrazine en milieu convenablement tamponné. Le composé formé est oxydé par le ferricyanure de potassium en milieu fortement chlorhydrique avec production d'une coloration rouge groseille extrêmement intense. Une étude très précise des conditions opératoires a été entreprise récemment par MARI et coll. (68). Néanmoins, le problème de l'élimination de l'acide periodique, de l'acide iodique, et éventuellement des iodures qui interfèrent dans cette réaction, n'est pas encore résolu d'une manière définitive. Ces divers composés entraînent soit une précipitation de la phénylhydrazine dans le premier stade de la réaction, soit une libération d'iode lors de l'oxydation par le ferricyanure de potassium.

HOUGH et coll. (59), dosant le formaldéhyde libéré par oxydation periodique de phénylosazones de différents holosides, ont utilisé cette réaction après avoir éliminé les dérivés oxygénés de l'iode par le procédé suivant :

L'iodate et le periodate de baryum étant très peu solubles, ces auteurs ajoutent un excès de solution saturée de chlorure de baryum et parachèvent la précipitation des iodate et periodate de baryum par addition d'une solution saturée de carbonate acide de sodium. Le pH doit se maintenir entre 7,95 et 8,75. Ils séparent le précipité par centrifugation et procèdent au dosage du formaldéhyde sur la liqueur surnageante. Ce protocole opératoire laisse subsister dans le milieu réactionnel de très faibles quantités d'iodate et de periodate qui peuvent entraîner des erreurs non négligeables.

TRAVAUX PERSONNELS

Nous avons donc tenté d'éliminer l'acide iodique et l'acide periodique par une autre technique.

Depuis déjà longtemps, RASCHIG (81) a montré qu'une solution d'azothhydrate de sodium était capable de réduire les solutions d'iode

avec formation d'iodure de sodium et production d'azote gazeux, à la condition que cette réaction soit induite par un dérivé soufré (thiocyanate de sodium, thiosulfate de sodium, dérivés organiques).

D'autres auteurs ont montré que l'azothydrate était décomposé par des oxydants forts tels que les nitrates (90).

Dans ces conditions, nous avons tout d'abord pensé que l'acide periodique pouvait dans des conditions déterminées, être réduit par l'azothydrate.

Des essais préliminaires non publiés, nous ont montré qu'effectivement, il était possible d'obtenir une réduction de l'acide periodique, mais que la réduction régulière de l'acide iodique s'avérait jusqu'ici impossible. Ces études ont été effectuées en utilisant, soit la réaction colorimétrique précédemment décrite, soit la polarographie. Jusqu'ici ces recherches n'ayant pas abouti à une technique satisfaisante, nous avons utilisé la chaîne de réactions suivante :

Dans un premier temps, en milieu acide et en présence d'un excès d'iodure de potassium, l'acide periodique et l'acide iodique sont réduits avec libération d'iode. Cet iode libre est ensuite réduit à l'état d'iodure alcalin, en milieu acétique, en présence d'un excès d'azothydrate de sodium et de très faibles quantités de chlorhydrate de cystéine. A ce moment, le milieu renferme de l'azothydrate de sodium en excès, des ions I^- , Na^+ , K^+ , CH_3COO^- et des traces d'ions Cl^- et de cystine.

Etant donné l'excès d'acide acétique et la quantité importante d'azothydrate de sodium introduits dans le milieu réactionnel, celui-ci se trouve automatiquement tamponné au voisinage de pH 4. Cette valeur du pH est voisine de celle préconisée par Hough et coll. (59) pour un bon développement de la réaction de SCHRYVER.

L'excès d'azothydrate, comme nous l'avons montré dans des expériences préalables, ne gêne pas cette réaction ; il en est de même des traces de cystéine et de cystine. Il reste donc à éliminer l'iodure en excès.

Cette élimination est basée sur le fait que la solubilité du chlorure d'argent et de l'iodure d'argent est inférieure à la solubilité de l'azothydrate d'argent : dans un mélange d'iodure, de chlorure et d'azothydrate de sodium, l'addition d'ions argent entraîne la précipitation des halogénures d'argent avant celle de l'azothydrate d'argent.

Dans ces conditions, si la quantité d'ions Ag^+ est calculée de telle sorte qu'elle soit supérieure à la quantité nécessaire pour précipiter tous les halogénures, mais inférieure à la quantité nécessaire pour précipiter le bloc halogénures-azothydrate, il s'en suit une précipitation totale des halogénures d'argent, l'excès de réactif étant éliminé sous forme d'azothydrate d'argent.

L'élimination de tous les ions Ag^+ s'avère absolument nécessaire, puisque ces derniers, précipitant avec la phénylhydrazine, inhibent la réaction colorée.

Protocoles analytiques.

RÉACTIFS.

— Réactif I :

Azothydrate de sodium	20 g
Iodure de potassium	1 g
Acide acétique	15 ml
Chlorhydrate de cystéine	100 mg
Eau distillée.....	q.s.p. 100 ml

Remarque. — L'azothydrate de sodium est un échantillon commercial recristallisé dans de l'alcool éthylique à 50 %.

L'acide acétique doit être redistillé sur anhydride chromique (2 %).

— Réactif II :

Solution aqueuse de nitrate d'argent à 7 %.

— Réactif III :

Solution de chlorhydrate de phénylhydrazine à 1 % dans un tampon acide acétique-acétate de sodium 0,2 M à pH 3,5.

— Réactif IV :

Solution aqueuse de ferricyanure de potassium à 2 %.

— Réactif V :

Acide chlorhydrique concentré ($d = 1,18$).

— Réactif VI :

Ce réactif est obtenu en mélangeant au moment de l'emploi, 2 volumes de réactif IV et 5 volumes de réactif V.

TECHNIQUE.

Dans une fiole jaugée de 20 ml, introduire une prise d'essai correspondant à une quantité de formaldéhyde inférieure à 100 μg . Ajouter le réactif I par fractions de 0,5 ml, en agitant entre chaque affusion jusqu'à ce que la dernière addition ne laisse plus apparaître de libération d'iode dans le milieu réactionnel. La quantité minimale de réactif I utilisée doit être au moins égale à 2,5 ml et le volume total ajouté doit toujours être un multiple de 2,5 ml. Après agitation et repos d'environ 10 minutes, ajouter 1 ml de nitrate d'argent à 7 % (R II) pour chaque fraction de 2,5 ml de réactif I. Compléter à 20 ml. Agiter. Filtrer sur filtre sans cendres.

Parallèlement, préparer un témoin traité dans les mêmes conditions mais dans lequel la solution de formaldéhyde à doser est remplacée par une quantité équivalente d'eau distillée.

Dans une fiole jaugée de 50 ml, introduire un volume de filtrat contenant une quantité de formaldéhyde inférieure à 40 μg .

Dans une seconde fiole jaugée de 50 ml, introduire une quantité équivalente de solution témoin.

D'autre part, préparer une gamme étalon pour des quantités de formaldéhyde comprises entre 0 et 40 μg par prise d'essai. Parallèlement, préparer un témoin de cette gamme dans lequel la solution de formaldéhyde est remplacée par de l'eau distillée.

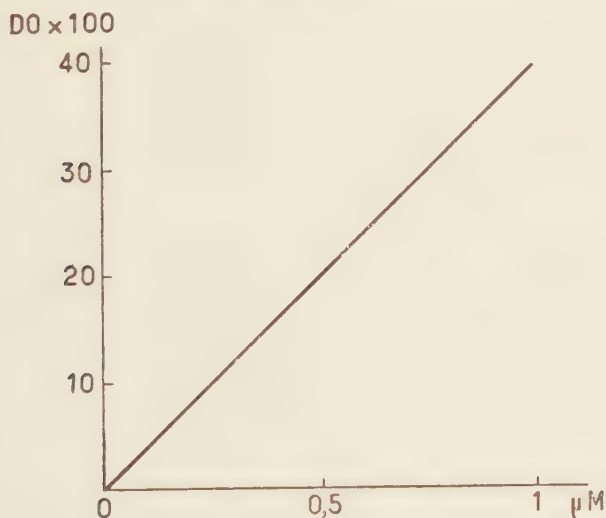
Dans toutes ces fioles, ajouter de l'eau distillée de manière à compléter à un volume égal à celui de la prise d'essai du filtrat précédent. Dans toutes les fioles ajouter alors 2 ml de réactif au chlorhydrate de phénylhydrazine (R III). Agiter et laisser reposer pendant 30 minutes à l'obscurité. Au bout de ce temps, ajouter 7 ml de réactif VI. Agiter. Laisser reposer exactement 3 minutes puis compléter à 50 ml avec de l'eau distillée. Agiter.

La lecture s'effectue à l'aide d'un spectrophotomètre pour la longueur d'onde de 518 $\text{m}\mu$ en cuve de 1 cm d'épaisseur, en réglant le zéro de l'appareil, d'une part sur le témoin de la gamme pour la lecture des tubes correspondant à la gamme étalon et d'autre part, sur le témoin des réactifs pour les essais.

Dans ces conditions, la représentation graphique de cette réaction colorée se traduit par une droite comme l'indique le tableau IX.

TABLEAU IX

Intensité de la coloration pour des doses croissantes de formaldéhyde



Discussion des résultats.

1. CHOIX DE LA LONGUEUR D'ONDE.

Nous ne discuterons pas du choix de la longueur d'onde à laquelle s'effectue la lecture puisque cette réaction a été depuis longtemps étudiée (68, 88).

Nous avons vérifié, sur des solutions pures de formaldéhyde en présence et en l'absence d'azothydrate, et en présence et en l'absence d'acide periodique éliminé comme nous l'avons vu plus haut, que le maximum d'absorption se situait toujours à la longueur d'onde de 518 m μ .

2. INTERFÉRENCE DES PRINCIPAUX RÉACTIFS.

Nous avons vérifié, à l'aide de dosages comparatifs utilisant des solutions étalon de formaldéhyde, en l'absence et en présence des différents réactifs envisagés, que ces derniers ne donnaient pas de coloration parasite.

L'excès d'azothydrate n'entraîne aucune interférence si l'on prend soin de le recristalliser avant l'emploi.

L'acide acétique doit être redistillé sur anhydride chromique : en l'absence de ce traitement, il peut apparaître des colorations roses parasites que nous attribuons à la présence de dérivés aldéhydiques contenus dans cet acide.

La cystéine provoque une légère coloration jaune des solutions : c'est la raison pour laquelle nous employons un témoin contenant tous les réactifs d'élimination des dérivés iodés.

L'examen comparatif de solutions pures du formaldéhyde, en présence et en l'absence d'azothydrate, a montré que ce dernier réactif n'a aucune influence sur l'intensité de la réaction colorée.

3. ETUDE DE LA COMPOSITION DU RÉACTIF A L'AZOTHYDRATE DE SODIUM.

Nous avons successivement fait varier les concentrations en chacun des composants.

a) *Azothydrate de sodium.*

Il est nécessaire de réaliser une concentration en azothydrate de sodium assez importante : la réaction de réduction de l'iode ne s'effectue qu'en présence de quantités largement supérieures à la quantité théorique nécessaire pour réduire tout l'iode existant dans le milieu. De surcroît, l'azothydrate en excès entraîne l'élimination automatique des ions argent qui n'ont pas été utilisés pour précipiter les halogénures et qui interféreraient dans les phases ultérieures du dosage.

b) *Iodure de potassium.*

L'acide iodique n'étant pas réduit directement par l'azothydrate de sodium dans nos conditions opératoires, il est nécessaire de détruire l'acide iodique et l'acide periodique par addition d'un excès d'iodure de potassium.

Des quantités inférieures en iodure de potassium ne permettent pas une libération d'iode régulière à partir de ces dérivés oxygénés de l'iode. Une quantité supérieure entraîne un large excès d'iodure qu'il est nécessaire d'éliminer. Le volume du précipité argentique augmente inutilement.

c) *Acide acétique.*

L'azothydrate de sodium risquant de développer une alcalinité importante, il est nécessaire, pour obtenir une réduction de l'iode dans des conditions satisfaisantes, d'ajouter un excès d'acide. Cette acidité est d'ailleurs nécessaire au développement régulier de la réaction de SCHRYVER.

L'utilisation de l'acide acétique possède l'avantage d'acidifier le milieu vers pH 3,5-4,0 et de donner avec les ions Na^+ libérés par l'oxydation de l'azothydrate, de l'acétate de sodium servant à tamponner le milieu à une valeur satisfaisante pour un développement régulier de la coloration.

d) *Chlorhydrate de cystéine.*

La réduction de l'iode par l'azothydrate est « entraînée » sous l'influence de dérivés soufrés. Compte tenu des conditions opératoires, il est nécessaire que cette réaction d'induction soit très rapide.

L'essai systématique de nombreux dérivés soufrés a montré que le chlorhydrate de cystéine s'oxyde très rapidement et ne gêne pas dans la suite du dosage.

Des quantités inférieures à celles qui ont été proposées ne permettent pas une réduction très régulière ; la concentration de 1 mg/ml est nécessaire à une réaction sensible et régulière.

e) *Nitrate d'argent.*

Les ions I^- formés par réduction de l'iode libre sous l'influence de l'azothydrate de sodium sont réoxydés dans la suite de la réaction par le ferrieyanure en milieu acide : il se produit alors une nouvelle libération d'iode qui rend impossible tout dosage colorimétrique.

Dans ces conditions, il est nécessaire d'ajouter une quantité d'ions Ag^+ suffisante pour précipiter la totalité des halogénures ; les ions Ag^+ donnant un précipité avec le chlorhydrate de phénylhydrazine, il est nécessaire d'en éliminer l'excès : cette élimination s'effectue automatiquement sous l'influence de l'azothydrate en excès. La quantité d'ions Ag^+ introduits doit être suffisante pour précipiter tous les halogénures, mais insuffisante pour précipiter l'ensemble halogénures-azothydrate.

Remarques. — Nous ne discuterons pas ici du choix de la concentration en chlorhydrate de phénylhydrazine, en ferrieyanure et en acide chlorhydrique, puisque cette réaction a déjà été largement étudiée par d'autres auteurs (59, 68, 88).

Précision de la méthode.

Nous oxydons les quantités d'ose ou d'oside indiquées par une quantité d'acide periodique égale à 1,5 fois la quantité nécessaire pour dégrader totalement le composé envisagé (tabl. X).

Nous titrons d'une part la quantité d'acide periodique consommée et nous en déduisons la quantité de formaldéhyde qui doit être normalement libérée. Nous titrons d'autre part la quantité de formaldéhyde libérée par la technique que nous venons de décrire.

Enfin, nous calculons, connaissant la quantité d'ose ou de polyol mis en réaction, la quantité théorique de formaldéhyde devant se former.

TABLEAU X
Pourcentage d'erreur enregistré dans le dosage du formaldéhyde

Substance oxydée		Quantité de formaldéhyde en μM		Erreurs
Nature	Quantité en mg	Calculé	Trouvé	
Sorbitol	98,5	1,082	1,095	+ 1,25 %
Lactose	53,0	0,147	0,147	0 %
Glucose	61,5	0,342	0,342	0 %
Galactose	51,0	0,283	0,279	— 1,5 %

Le tableau X résume les résultats obtenus. Dans la deuxième colonne figure la quantité d'oside mise en réaction. Dans la troisième colonne figure la quantité de formaldéhyde calculée à partir de la quantité d'ose, ou de polyol, mise en réaction. Dans la quatrième colonne figure la quantité de formaldéhyde dosée par la technique proposée. Dans la dernière colonne, nous avons fait figurer le pourcentage d'erreur entre la quantité de formaldéhyde calculée et la quantité trouvée. Nous constatons que les erreurs restent inférieures à $\pm 2\%$, pour des quantités de formaldéhyde inférieures à $40\ \mu\text{g}$ par prise d'essai.

CONCLUSIONS.

Cette réaction colorée est utilisable dans la forme décrite pour des concentrations en formaldéhyde inférieures à $100\ \mu\text{g}$ par prise d'essai. Un gros excès d'acide iodique ou d'acide periodique ne gêne pas. La présence d'azothydrate en excès est absolument nécessaire.

Le pH du milieu réactionnel doit être voisin de 4, et ceci est obtenu par addition d'un excès d'acide acétique qui a la propriété de tamponner le milieu réactionnel. La présence de chlorhydrate de cystéine est nécessaire.

DEUXIÈME PARTIE

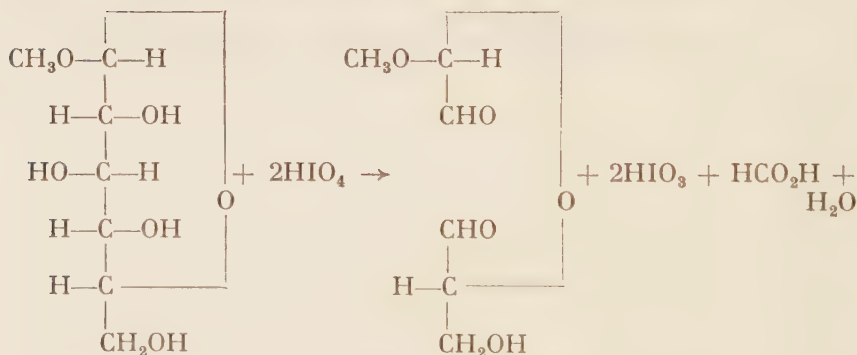
**ÉTUDE CINÉTIQUE DE L'OXYDATION
DE QUELQUES MÉTHYLOSIDES, DIHOLOSIDES
RÉDUCTEURS ET NON RÉDUCTEURS**

TRAVAUX ANTÉRIEURS

α. Oxydation des pyranosides et des furanosides.

L'acide periodique en excès oxyde régulièrement les méthylhexopyranosides. La liaison osidique stabilise le cycle pyranique du glucoside et seules les fonctions α -glycol présentes dans la forme pyranique sont attaquées par l'acide periodique ; le tableau I représente l'oxydation de Al-méthyl-D-glucopyranoside.

TABLEAU I
Oxydation de l' α -méthyl-D-glucopyranoside



L'acide periodique n'attaque que les hydroxyles contigus supportés par les atomes de carbone 2, 3 et 4 ; le cycle pyranique est rompu, l'atome de carbone 3 s'en trouve séparé sous forme d'acide formique et il apparaît un dialdéhyde possédant un atome de carbone de moins que l'aldohexose initial.

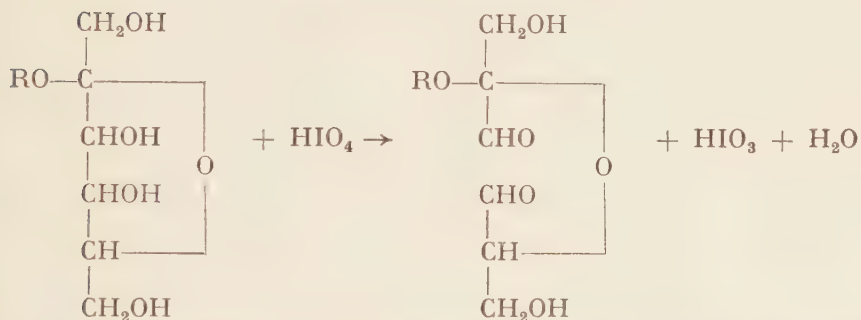
L'oxydation par l'acide periodique fait disparaître les sources d'asymétrie introduites par les atomes de carbone 2, 3 et 4 ; le dialdéhyde est encore optiquement actif puisqu'il conserve les atomes de carbone asymétriques 1 et 5 de l'aldohexose initial. Mais la disposition de ces atomes de carbone asymétriques peut se retrouver dans d'autres oses. C'est ainsi que le tableau I représente un dialdéhyde qui est commun par

exemple à l' α -méthyl-D-glucopyranoside, à l' α -méthyl-D-galactopyranoside et à l' α -méthyl-D-mannopyranoside.

Parallèlement l'osidification stabilise l'hétérocycle furanique. Un cétohexofuranoside ne possède plus qu'une fonction α -glycol libre, intéressant les atomes de carbone 3 et 4 ; la rupture a lieu entre ces deux atomes et il apparaît un dialdéhyde ayant le même nombre d'atomes de carbone que le cétohexose initial.

Le tableau II montre, qu'à la différence du dérivé pyranique, l'oxydation par l'acide periodique du dérivé furanique ne libère pas d'acide formique.

TABLEAU II
Oxydation des fructofuranosides



R est un radical alcoolique ou phénolique non oxydable par l'acide periodique.

B. *Oxydation des oligosides non réducteurs.*

Dans le cas des oligosides non réducteurs, chacune des unités furanoside ou pyranoside est oxydée indépendamment selon les schémas précédents (tabl. I et II).

Dans le saccharose, la fraction glucopyranoside réduit deux molécules d'acide periodique en libérant une molécule d'acide formique. De son côté, la fraction fructofuranose ne réduit qu'une molécule d'acide periodique sans libérer d'acide formique. Le saccharose conduit ainsi à un tétraldéhyde (tabl. III) oxydable par le brome, en un tétracide qui est scindé par hydrolyse en une molécule d'acide glyoxylique, une molécule d'acide hydroxypyruvique et deux molécules d'acide glycérique [FLEURY et COURTOIS (43, 44)].

Dans le tréhalose, les deux fractions glucopyranoside réduisent respectivement deux molécules d'acide periodique en libérant chacune une molécule d'acide formique. Ce diholoside conduit ainsi à un tétraldéhyde (tabl. IV) oxydable par le brome en un tétracide qui est scindé par hydrolyse en deux molécules d'acide glyoxylique et deux molécules d'acide glycérique (57).

Oxydation du tréhalose
 α -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 1)-D-glucopyranose



C. Oxydation des oligosides réducteurs.

Dans le cas des oligosides réducteurs, l'ose dont le groupement réducteur est libre, s'oxyde comme s'il se trouvait sous forme linéaire, tandis que les oses dont les groupements réducteurs sont impliqués dans les liaisons osidiques sont oxydés comme les pyranosides ou furanosides correspondants.

L'acide periodique oxyde le mélibiose (α -galactosido-(1 $\rightarrow$ 6)-D-glucose) selon le tableau V : la molécule de galactose se trouve sous forme d' α -galactopyranoside ; la liaison oxydique est stabilisée par l'union avec la fonction alcool primaire du glucose. La molécule de galactose est oxydée selon le schéma indiqué dans le tableau I et le glucose est oxydé comme s'il réagissait sous forme linéaire. Cependant, comme la fonction alcool primaire est bloquée, il existe un groupement glycol de moins que dans le glucose non combiné ; la liaison entre les atomes de carbone 5 et 6 du glucose n'est pas rompue : il n'apparaît pas de formaldéhyde et un reste d'aldéhyde glycolique demeure lié au dialdéhyde dérivant de l'unité galactose.

Le trialdéhyde est oxydable par le brome en un triacide libérant, par hydrolyse, une molécule d'acide glyoxylique, une molécule d'acide D-glycérique provenant du galactose et une molécule d'acide glycolique ayant pour origine les atomes de carbone 5 et 6 de l'unité glucose [COURTOIS, WICKSTRÖM et LE DIZET (38)].

Le comportement du mélibiose avec l'acide periodique est caractéristique des propriétés des oligosides réducteurs ; l'ose, dont le groupement réducteur est bloqué, réagit comme un oside, tandis que l'ose terminal réagit comme les oses libres ; la réaction est cependant moins étendue puisqu'il est substitué sur l'une des fonctions alcool.

Sur les oligosides réducteurs qui possèdent une liaison (1 $\rightarrow$ 4), l'acide periodique réagit suivant un schéma un peu plus complexe ; le polyaldéhyde qui se forme dans un premier temps (tabl. VI) subit dans une seconde phase une superoxydation relativement lente ; cette dernière s'accompagne de la rupture des divers ponts oxydiques et les fragments ainsi séparés sont attaqués indépendamment par l'acide periodique.

En négligeant la superoxydation, on peut considérer que le lactose réagit selon le schéma indiqué dans le tableau VI. Dans la molécule de glucose la fonction alcool portée par l'atome de carbone 4 est engagée dans la liaison osidique, seules les liaisons entre les carbones 1, 2 et 2, 3 peuvent réagir. La molécule de glucose s'oxyde comme si elle réagissait sous forme linéaire. La molécule de galactose s'oxyde selon le schéma indiqué dans le tableau I. Il apparaît trois molécules d'acide formique et une molécule de formaldéhyde ; cette dernière provient de la fonction alcool primaire supportée par l'atome de carbone 6 de la molécule de glucose.

Le tétraldéhyde s'oxyde par le brome en un tétracide qui, par hydrolyse, libère une molécule d'acide glyoxylique, une molécule d'acide D-glycérique et une molécule d'acide hydroxymalonique ; cette dernière provient de l'unité glucose.

TABIEAU V

Oxydation du mëlbiôse
 α -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-D-glucose

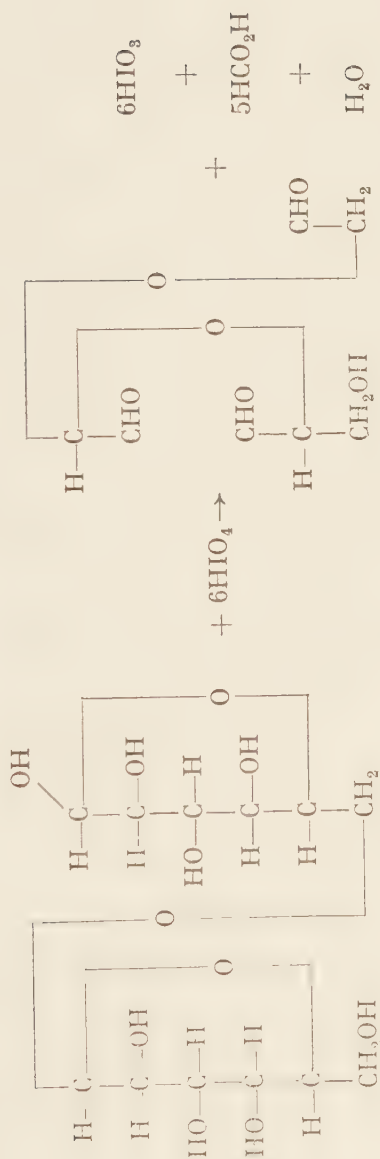
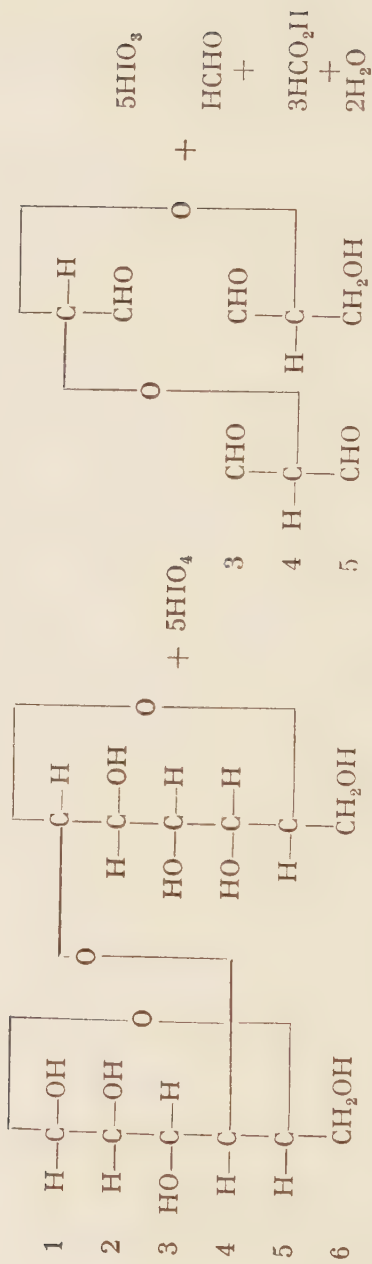


TABLEAU VI

Oxydation du lactose

$$\beta\text{-D-galactopyranosyl-(1} \rightarrow 4\text{)-D-glucose}$$


Le laminaribiose (β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-D-glucose) est oxydé suivant un schéma comparable à celui du lactose; il se forme un tétraldéhyde qui possède la même structure que celle obtenue à partir du lactose (tabl. VII).

Le sophorose (β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-D-glucose) réagit avec trois molécules d'acide periodique pour donner un tétraldéhyde et une molécule d'acide formique; ce tétraldéhyde est oxydable par le brome en tétracide. L'acide periodique réagit ici d'une manière comparable à celle qui a été observée pour le saccharose.

Les polyaldéhydes correspondant à ces osides s'obtiennent facilement par action de l'acide periodique en excès (66).

La désionisation des produits d'oxydation s'obtient par l'utilisation de résine échangeuse d'ions à caractère fortement basique du type ammonium quaternaire (AMBERLITE I.R.A. 400) sous forme acétate; les rendements sont de l'ordre de 80 %.

JURADO SOLER (66) a obtenu des « polyaldéhydes » cristallisés: en particulier les « dialdéhydes » des α - et β -méthyl-D-glucopyranosides, et les « tétraldéhydes » du lactose et du saccharose. Ces dérivés cristallisent avec une, deux ou trois molécules d'eau: du fait de leur structure cyclique (voir quatrième partie) ils ne possèdent pas de fonction aldéhyde libre.

On peut, en effet admettre, pour le dialdéhyde formé au cours de l'oxydation des α - et β -méthyl-glucopyranosides par exemple, la formation transitoire d'un composé dialdéhydrique qui s'hydrate et se cyclise en donnant naissance à un composé à structure *p*-dioxanne.

De même, en considérant le saccharose comme formé de l'enchaînement de deux unités d'hexose, il est possible d'envisager un mécanisme de réaction du même type. Les deux unités réagissent d'une manière très voisine de celle qui a été proposée par le méthyl-glucopyranoside: il en résulte un polyaldéhyde à structure cyclique correspondant à l'enchaînement de deux unités de dialdéhyde cyclisé.

Cette interprétation s'applique aussi à la partie non réductrice des diholosides réducteurs (lactose, mélibiose). L'unité réductrice au contraire, qui s'oxyde comme si elle possédait une structure linéaire, donne naissance à un mono- ou à un dialdéhyde qui ne peut réagir d'une manière comparable.

Dans le cas du lactose, la partie glucose donne naissance à un dialdéhyde à trois atomes de carbone (type aldéhyde malonique) dont les deux fonctions carbonylées s'hydratent. Le composé est stabilisé par formation de ponts d'hydrogène et par la présence d'un atome d'oxygène lié à l'atome de carbone 2.

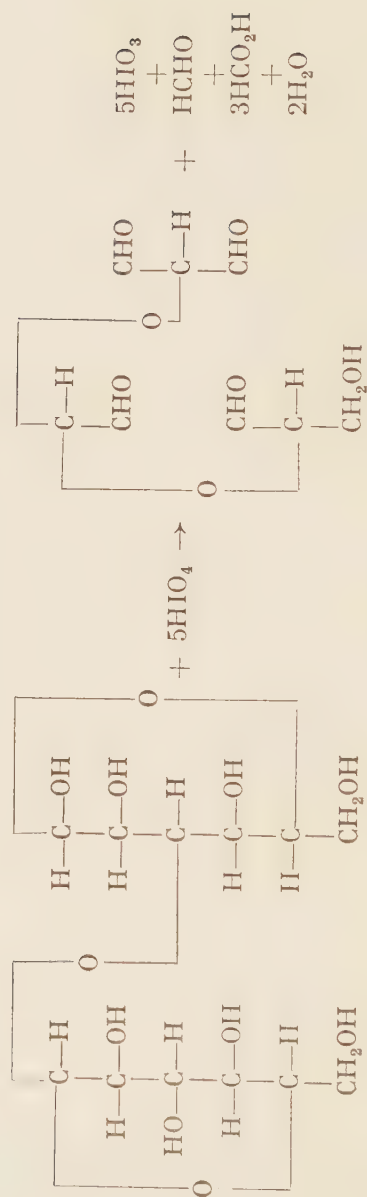
Dans le cas du mélibiose, l'unité correspondant au glucose lié par son atome de carbone 6 ne contient qu'une seule fonction aldéhyde (type acétaldéhyde) dont l'hydrate est labile puisqu'il n'existe aucune possibilité de stabilisation par formation de ponts d'hydrogène. Toutes ces réactions mettent en jeu une quantité d'acide periodique supérieure à la quantité nécessaire pour oxyder totalement l'acide considéré.

D'autre part, au cours de recherches antérieures, nous avons étudié

TABLEAU VII

Oxydation du laminaribiose

β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-D-glucose



l'oxydation de polyols acycliques et de quelques aldohexoses par de faibles quantités d'acide periodique.

En utilisant une quantité d'oxydant très inférieure (5 à 40 %) à celle qui serait normalement consommée par le réducteur lorsqu'on le met en présence d'un excès d'acide periodique, nous avons remarqué que l'attaque des aldohexoses se fait très préférentiellement entre les atomes de carbone 1 et 2 : c'est-à-dire entre la fonction aldéhyde et un groupement alcool secondaire. Par contre, en accord avec les travaux de SCHWARZ (89), nous avons montré que l'attaque des hexitols linéaires s'effectue entre les atomes de carbone 3, 4 pour le mannitol, 2, 3 et 3, 4 pour le sorbitol, 2, 3 et 4, 5 pour le dulcitol : c'est-à-dire au niveau des liaisons porteuses de groupements alcool secondaire dont les hydroxyles sont situés en position trans (dans le système de notation de FISCHER) (34, 54).

BARTON et COOKSON (16) expliquent ce phénomène par le fait que la rotation des hydroxyles autour de la chaîne carbonée les place dans une position beaucoup plus favorable pour donner le complexe acide periodique-glycol qui, comme l'a entrevu CRIEGEE (39) et l'ont montré BUIST et coll. (22, 24), est le premier stade de l'oxydation periodique.

Dans toutes ces oxydations, le caractère réducteur des produits provenant du premier stade de l'attaque est beaucoup plus intense que celui des molécules intactes. Tout se passe comme si l'acide periodique poursuivait la dégradation de la molécule dont il a commencé l'attaque.

D'autre part, nous avons constaté (35, 54) que les différentes liaisons oxydables n'ont pas la même affinité pour l'acide periodique et que celles-ci pouvaient être classées dans l'ordre décroissant de leur vitesse de réaction suivant les substituants portés par les atomes de carbone.



FLEURY, COURTOIS et BIEDER (45) ralentissant l'attaque des hexoses par l'acide periodique grâce à l'addition d'éthanol (70 %) ou d'acétone (50 %) constatent que le mannose s'oxyde plus rapidement que le galactose et celui-ci plus vite que le glucose ; ils font l'hypothèse que l'attaque est préférentielle entre les atomes de carbone portant deux hydroxyles en position cis.

TRAVAUX PERSONNELS

I. — Vitesse d'oxydation.

En vue de confirmer ces faits, nous avons appliqué les techniques précédemment utilisées (34, 35, 54) à l'oxydation des α -méthyl-D-arabopyranoside (I), α -méthyl-D-xylopyranoside (II), α -méthyl-D-mannopyranoside (III), α -méthyl-D-galactopyranoside (IV) et α - et β -méthyl-D-glucopyranoside (V et V bis).

L'action perturbatrice de la fonction réductrice se trouve ainsi supprimée. Parallèlement, nous oxydons dans les mêmes conditions,

quelques diholosides : un diholoside ($1 \rightarrow 6$), le mélibiose, deux diholosides ($1 \rightarrow 4$), le lactose et le maltose, un diholoside ($1 \rightarrow 3$), le laminaribiose, un diholoside ($1 \rightarrow 2$), le sophorose, puis deux diholosides non réducteurs, l' α - α' -tréhalose et le saccharose.

Techniques utilisées.

a) Méthylosides.

Chaque molécule d'oside consommant deux molécules d'acide periodique, nous effectuons l'oxydation avec 5 %, 20 % et 40 % de la quantité d'acide periodique nécessaire pour dégrader totalement l'oside en dialdéhyde, c'est-à-dire que nous mettons en œuvre respectivement 0,10, 0,40 et 0,80 molécule d'acide periodique par molécule d'oside. A un volume déterminé de solution 0,1 M de l'oside à étudier, préalablement refroidie à 0° C, nous ajoutons une quantité calculée d'acide periodique libre en solution 0,05 M, elle-même refroidie à 0° C. La réaction s'effectue dans un bain de glace. A des temps déterminés, nous titrons la quantité d'acide periodique qui n'a pas réagi par la méthode de MALAPRADE en prélevant suivant les concentrations en acide periodique des quantités variables de mélange réactionnel ; celles-ci sont introduites dans une solution aqueuse d'iodure de potassium à 20 % acidifiée au moment de l'emploi par de l'acide acétique redistillé ; l'iode libéré est immédiatement dosé par une solution titrée de thiosulfate de sodium. Un essai témoin réalisé dans les mêmes conditions en substituant à la solution d'oside une quantité équivalente d'eau distillée, permet par simple différence, le calcul de la quantité d'acide periodique réduit.

b) Diholosides.

Dans des conditions identiques, nous avons oxydé les diholosides réducteurs et non réducteurs qui consomment respectivement 6 molécules d'acide periodique pour le mélibiose, 5 molécules pour le lactose, le maltose (33, 36) et le laminaribiose, 4 molécules pour le tréhalose, 3 molécules pour le sophorose et pour le saccharose (43, 44).

Les proportions d'oxydant utilisées correspondent à 0,30, 1,20, 2,40 molécules d'acide periodique par molécule de mélibiose, 0,25, 1 et 2 molécules d'acide periodique par molécule de maltose, de lactose et de laminaribiose, 0,20, 0,80 et 1,60 molécules d'acide periodique par molécule de tréhalose, et enfin 0,15, 0,60 et 1,20 molécules d'acide periodique par molécule de sophorose et de saccharose.

Résultats.

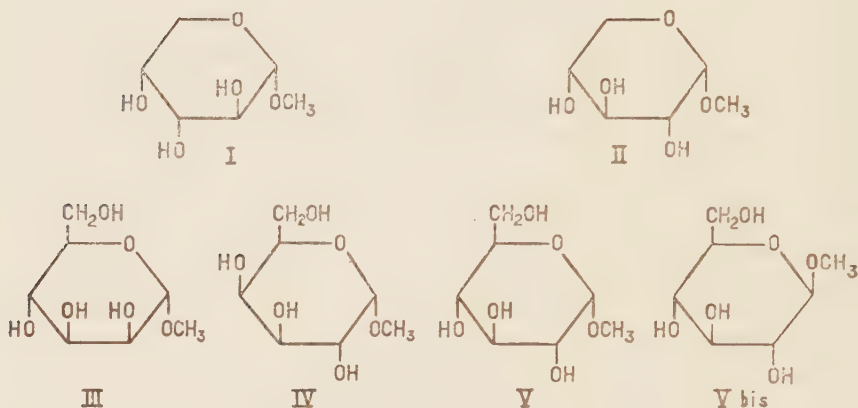
Les résultats sont groupés dans les tableaux X à XIII. Ils expriment la quantité d'acide periodique consommée en fonction de la durée de contact de l'oxydant avec l'oside.

Le tableau X correspond à une quantité d'acide periodique égale à 5 % de la quantité nécessaire pour oxyder totalement l'ose ou l'oside.

Le tableau XI correspond à 20 % de l'acide periodique dans les mêmes conditions et le tableau XII à 40 %.

Le tableau XIII représente le temps au bout duquel on note la disparition d'une quantité d'acide periodique égale à 50 % et à 75 % de la quantité initiale.

TABLEAU IX



Configuration des méthylsides oxydés

(Nous n'avons fait ressortir que les positions des hydroxyles sans mentionner les atomes d'hydrogene)

Si l'on considère le cas des pentosides, on s'aperçoit qu'il n'y a pas de commune mesure entre la vitesse d'attaque des α -méthyl-D-arabopyranoside (I) et α -méthyl-D-xylopyranoside (II) : l' α -méthyl-D-arabopyranoside possède une paire d'hydroxyles en cis alors que l' α -méthyl-D-xylopyranoside n'en possède pas.

Dans le cas des hexosides, si cette différence est relativement moins marquée, elle n'en est pas moins significative.

Les deux hexosides qui possèdent une paire d'hydroxyles en cis [α -méthyl-D-mannopyranoside (III) et α -méthyl-D-galactopyranoside (IV)] s'oxydent plus rapidement que l' α -méthyl-D-glucopyranoside (V) qui ne possède que des groupements hydroxyles en trans.

Notons tout de suite que l' α -méthyl-D-mannopyranoside manifeste une affinité plus grande pour l'acide periodique que l' α -méthyl-D-galactopyranoside. Nous tenterons d'interpréter ces résultats dans la suite.

L'examen des résultats consignés dans le tableau X et la première colonne du tableau XI nous permet de classer ces divers osides du plus oxydable au moins oxydable : $I > III > IV > II > V$.

TABLEAU X

Oxydation des divers osides par 5 % de la quantité d'acide périodique réductible en présence d'un excès d'oxydant

Durée de l'oxydation	5 mn	10 mn	20 mn	30 mn	45 mn	1 h	1 h 30	2 h	2 h 30	3 h	3 h 30	4 h	5 h	6 h
α -méthylarabopyranoside	56	70	86	95	98	100								
α -méthylxylopyranoside	18	23	30	36	46	53	68	76	83	90	95	99		
α -méthylmannopyranoside	29	44	63	75	87	92	97	99	100					
α -méthylgalactopyranoside	25	36	50	62	74	82	91	98	100					
α -méthylglucopyranoside	11	18	30	42	51	59	70	78	83	88	92	96	98	100
β -méthylglucopyranoside	11	18	28	35	48	55	65	76	83	88	92	96	98	100
Melibiose	100													
Maltose	93	100												
Lactose	60	81	96	100										
Laminaribiose	62	70	77	84	90	92	97	99	100					
Sophorose	30	39	55	65	74	83	89	95	98	100				
Trehalose	13	19	36	44	54	63	73	81	86	91	93	95	97	98
Saccharose	31	44	70	80	91	97	98	100						

Ces nombres expriment le pourcentage d'acide périodique consommé.

TABLEAU XI

Oxydation des divers osiles par 20 % de la quantité d'acide periodique réductible en présence d'un excès d'oxydant

	5 mn	10 mn	20 mn	30 mn	45 mn	1 h	1 h 30	2 h	2 h 30	3 h	3 h 30	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h	9 h	10 h
Durée de l'oxydation																		
α -méthylarabopyran- oside	44	57	72	80	88	93	100											
α -méthylxylopyran- oside	8	17	23	30	35	42	49	56	61	64	68	73	80	85	88			
α -méthylmannopyran- oside	18	26	42	55	65	73	83	90	95	99	100							
α -méthylgalactopyran- oside	15	26	43	52	60	68	80	88	93	96	98	99	100					
α -méthylglucopyran- oside	6	8	13	22	30	36	46	52	57	63	67	72	80	84	86	90	92	94
β -méthylglucopyran- oside	5	8	15	23	27	33	44	48	57	61	65	71	76	81	86	90	92	94
Mélibiose	92	97	97	98	99	100												
Maltose	60	69	76	84	88	93	98	100										
Lactose	38	54	70	78	87	91	97	98	99	100								
Laminaribiose	15	18	20	25	30	33	35	38	40	43	45	48	54	60	68	74	83	91
Sophorose	5	8	13	18	25	30	40	47	50	55	59	62	66	70	75	79	82	85
Tréhalose	6	9	17	24	30	35	44	53	58	65	69	72	79	84	88	92	94	96
Saccharose	14	24	39	47	60	68	77	85	91	93	100							

Ces nombres expriment le pourcentage d'acide periodique consommé.

TABLEAU XII

Oxydation des divers osites par 40 % de la quantité d'acide périodique réductible en présence d'un excès d'oxydant

Durée de l'oxydation	5 mn	10 mn	20 mn	30 mn	45 mn	1 h	1 h 30	2 h	2 h 30	3 h	3 h 30	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h	9 h	10 h
α -méthylarabopyranoside	30	19	68	58	71	79	91	98	100									
α -méthylxylopyranoside	8	15	19	23	27	32	36	44	48	52	56	59	66	72	76			
α -méthylmannopyranoside	15	20	27	38	48	58	66	77	84	89	91	94	97	99	100			
α -méthylgalactopyranoside	10	18	28	38	50	55	67	76	83	86	90	92	97	98	100			
α -méthylgluco-pyranoside	3	8	12	15	23	26	33	38	43	47	51	54	60	67	71	74	78	81
β -méthylgluco-pyranoside	3	6	13	15	19	23	31	37	42	46	50	53	58	65	68	71	75	80
Mélibiose	75	83	89	93	95	98	100											
Maltose	31	38	46	51	56	63	71	78	81	85	89	91	95	96	97			
Lactose	26	36	46	53	61	68	76	84	87	92	94	95	97	98				
Laminaribiose	15	25	30	32	34	37	40	43	44	45	46	46	47	49	54	60	62	65
Sophorose	3	5	8	10	13	15	20	25	30	35	39	41	45	50	52	56	59	62
Tréhalose	5	7	10	14	17	23	30	36	41	47	51	55	62	67	72	75	78	81
Saccharose	12	16	26	34	42	50	60	66	75	80	82	86	90	92	96			

Ces nombres expriment le pourcentage d'acide périodique consommé.

TABLEAU XIII

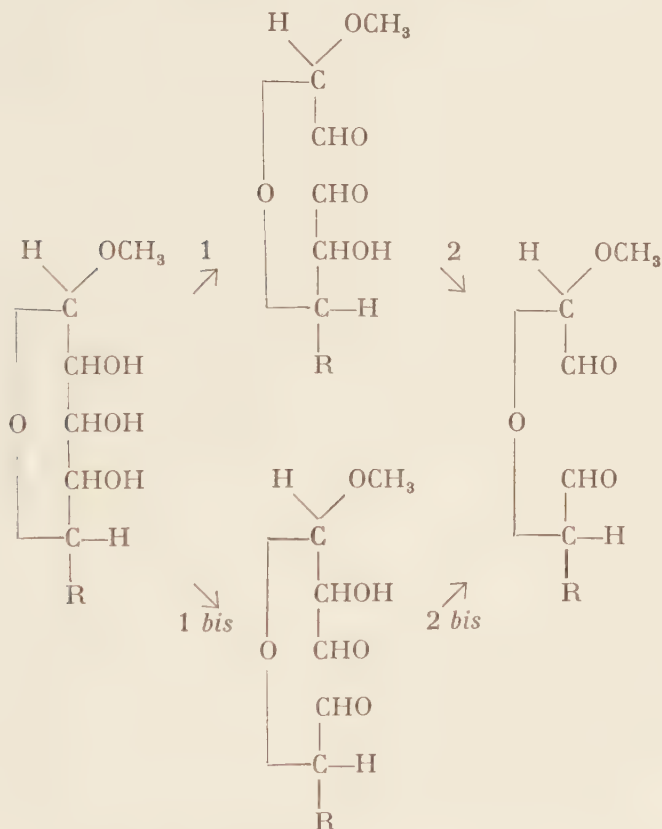
Temps de réduction de 50 % et 75 % de l'acide periodique présent au début de la réaction

Pourcentage oxydé du PI présent au début de la réaction	50 %			75 %		
	5 %	20 %	40 %	5 %	20 %	40 %
	inférieur à 5 mn	7 mn 30 s	22 mn	13 mn	24 mn	52 mn
Pourcentage de la quantité théorique nécessaire de PI mis en réaction						
α -méthylarabopyranoside	inférieur à 5 mn	7 mn 30 s	22 mn	13 mn	24 mn	52 mn
α -méthylxylopyranoside	53 mn	1 h 35 mn	2 h 45 mn	2 h	2 h 15 mn	6 h 45 mn
α -méthylmannopyranoside	43 mn	26 mn	48 mn	30 mn	1 h 06 mn	1 h 55 mn
α -méthylgalactopyranoside	20 mn	28 mn	45 mn	47 mn	1 h 17 mn	1 h 57 mn
α -méthylglucopyranoside	44 mn	1 h 50 mn	3 h 23 mn	1 h 47 mn	4 h 22 mn	7 h 15 mn
β -méthylglucopyranoside	49 mn	2 h 07 mn	3 h 30 mn	1 h 57 mn	4 h 54 mn	9 h
Mélibiose	inférieur à 5 mn	inférieur à 5 mn	5 mn	inférieur à 5 mn	inférieur à 5 mn	5 mn
Maltose	inférieur à 5 mn	inférieur à 5 mn	28 mn	inférieur à 5 mn	19 mn	1 h 47 mn
Lactose	inférieur à 5 mn	9 mn	24 mn	7 mn 30 s	26 mn	1 h 26 mn
Laminaribiose	inférieur à 5 mn	4 h 20 mn	6 h 12 mn	7 h	8 h 05 mn	supérieur à 10 h
Sophorose	17 mn	2 h 30 mn	6 h	45 mn	7 h	supérieur à 10 h
Tréhalose	38 mn	1 h 50 mn	3 h 20 mn	1 h 37 mn	4 h 23 mn	8 h
Saccharose	14 mn	33 mn	1 h	25 mn	1 h 23 mn	2 h 30 mn

Discussion.

Ceci est conforme aux conclusions de JACKSON et HUDSON (63, 64), MITRA et PERLIN (70), CLANCY et WHELAN (32), HALSALL et coll. (56), relatives à divers méthylosides. BULGRIN (25), de plus, constate l'oxydabilité préférentielle du dérivé *cis* 1-2-cyclopentanediol sur le dérivé

TABLEAU XIV
Oxydation des pyranosides



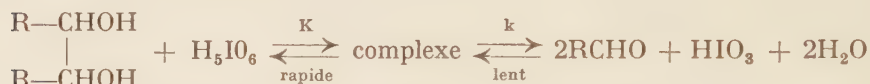
trans. ZUMAN et coll. (97) font une constatation identique avec des glycols 1-2 substitués.

Ces auteurs réalisent toutes les oxydations, jusqu'au stade ultime de dégradation, en présence d'un excès d'acide periodique et mettent en évidence la fin de la réaction, soit par mesure du pouvoir rotatoire du milieu réactionnel qui varie d'une façon ininterrompue jusqu'à

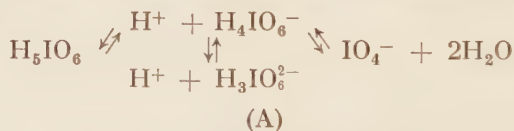
l'ultime dégradation de l'oside en dialdéhyde (JACKSON et HUDSON,) soit chimiquement par évaluation de l'acide periodique consommé.

Les méthodes d'oxydation adoptées par ces auteurs suggèrent deux remarques : tout d'abord, le fait que l'oxydation se faisant en deux temps (tabl. XIV), le produit résultant de la réaction 1 et 1 bis, qui possède une fonction aldéhyde réagit certainement plus rapidement que l'oside dont il dérive (34, 54).

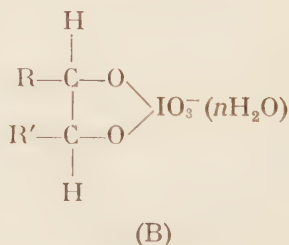
En second lieu, si l'on examine le mécanisme intime de l'oxydation, on sait que celui-ci peut être schématisé de la manière suivante : le premier stade est la formation rapide d'un complexe entre le groupement glycol et la molécule d'acide periodique ; ce complexe, qui possède un cycle pentagonal comprenant l'atome d'iode de l'acide periodique, relativement instable, se détruit lentement en donnant naissance à une molécule d'acide iodique et au produit oxydé suivant le schéma général [BUIST et coll. (22, 24)] :



Cette double réaction, bien que se traduisant par des variations de pH correspondant à la formation du complexe, puis à sa dégradation, est indépendante de ce pH si celui-ci reste inférieur à 7 (23) : c'est le cas de notre expérimentation ($\text{pH} = 2,0 \pm 0,3$). C'est pourquoi nous n'avons pas utilisé de tampon. En réalité, il n'existe pas un seul complexe mais un équilibre entre plusieurs complexes correspondant aux divers ions periodiques, équilibre qui est régi par le pH initial de la solution (A).



Quoiqu'il en soit, on peut représenter ce complexe sans préjuger de l'état d'hydratation de l'ion periodique de la manière suivante, n étant égal à 1 ou à 0 (B) :



Sa formation correspond à une réaction d'ordre 1 si le glycol est en excès (cas de nos essais).

Notre technique (excès de glycol en milieu acide) permet d'avoir une idée exacte de la vitesse de formation du complexe, et ceci avec d'autant plus de sûreté que la concentration en acide periodique est plus faible. C'est pourquoi notre préférence se porte sur les résultats donnés par le tableau X et les première et quatrième colonnes du tableau XIII.

On peut donc conclure que la formation du complexe est plus facile lorsque l'acide periodique se trouve en présence d'un groupement cis-glycol. Cette constatation s'explique facilement par la disposition spatiale des deux antagonistes. REEVES (83, 84, 85), en étudiant la formation de complexes cupri-ammoniques avec des composés possédant des groupements glycol, montre que cette formation n'est possible que si les hydroxyles sont en position cis vraie (angle de projection 0° , distance calculée des OH, 2,51 Å) ou en position cis fausse (angle de projection $\pm 60^\circ$, distance 2,86 Å). Dans le cas où l'angle de projection est de $\pm 120^\circ$ ou de $\pm 160^\circ$ avec des distances respectives de 3,45 et 3,71 Å, la réaction est impossible.

Cette même classification peut être étendue à l'action du tétracétate de plomb (TAPb) (42, 58). On distingue trois groupes s'oxydant respectivement très rapidement, rapidement ou lentement, correspondant aux positions cis vraies (chaîne linéaire), cis fausses (cas du cycle pyranique : angle $\pm 60^\circ$) et trans. Cette classification peut aussi s'appliquer partiellement à l'action de l'acide periodique, si l'on considère la distance de deux atomes d'oxygène dans la molécule de cet oxydant. Cette distance est de 2,72 Å compte tenu des considérations développées par BUIST et coll. (23). On conçoit donc facilement que la position des hydroxyles en cis fausse des osides considérés (ce qui correspond à la forme chaise du cycle pyranique : distance 2,86 Å) soit très favorable, la position trans (distance 3,45 ou 3,71 Å) étant très défavorable. Mais, si la très grande influence de l'isomérisation cis-trans se trouve ainsi prouvée, cette isomérisation n'est pas le seul facteur intervenant pour contrôler la rapidité de formation du complexe acide periodique-glycol. La position du groupement méthoxy sur le carbone 1 (isomère α et β) ne semble avoir qu'une influence très faible sur la vitesse d'oxydation. Dans le cas des méthylglucopyranosides (V et V bis), on peut tout juste noter que l'isomère β s'oxyde très légèrement plus lentement que le dérivé α . Si l'écart considéré est dans le même sens que ceux notés par JACKSON et HUDSON (63, 64) et GARNER et coll. (48), il ne semble pas assez important pour que l'on puisse en tirer une conclusion certaine. Notons pour mémoire que GORIN (52) constate lui aussi une plus grande résistance de l'isomère β à l'hydrogénéolyse. En revanche, l'encombrement stérique que fait apparaître la présence de radicaux substitués sur le carbone 5 semble fondamental. Deux groupes d'essais permettent de conclure sans ambiguïté que le fait de substituer à un atome d'hydrogène une fonction alcool primaire, d'encombrement non négligeable et de polarité relativement forte, entrave la vitesse de formation du complexe, et ceci d'autant plus que les hydroxyles engagés dans le cycle complexe sont proches du carbone 5.

L' α -méthyl-D-glucopyranoside dérive de l' α -méthyl-D-xylopyranoside par substitution d'un atome d'hydrogène par un groupement alcool

primaire sur le carbone 5. Cette substitution n'entraîne que des modifications tout à fait négligeables de la vitesse de complexation, puisque celle-ci est déjà largement entravée par la disposition trans de tous les hydroxyles (tabl. IX).

En revanche, l' α -méthyl-D-arabopyranoside, dont le groupement cis-glycol est éloigné du groupement méthoxy et ne possède pas de substitution sur le carbone 5, s'oxyde particulièrement rapidement ; les α -méthyl-D-mannopyranoside et α -méthyl-D-galactopyranoside réagissent plus lentement, mais encore de manière nettement différente l'un de l'autre. Les groupements cis-glycol de l' α -méthyl-D-mannopyranoside et de l' α -méthyl-D-galactopyranoside sont eux-mêmes en cis par rapport au groupement alcool primaire, ce qui entraîne un empêchement dans la formation du complexe d'autant plus marqué que ce groupement migre de la position 2-3 à la position 3-4, c'est-à-dire qu'il se rapproche de la fonction alcool primaire.

Cet empêchement dû à la fonction alcool primaire est manifeste si l'on considère maintenant la structure spatiale de l' α -méthyl-D-arabopyranoside et de l' α -méthyl-D-mannopyranoside. Dans le premier la distance entre le groupement cis-glycol (situé en 3-4) est à peu près identique à la distance de groupement de l' α -méthyl-D-mannopyranoside (situé en 2-3) par rapport au groupement alcoolique (dans ce cas, le groupement méthoxy situé en trans n'apporte aucune gêne). La position relative du groupement méthoxy de l' α -méthyl-D-arabopyranoside est à peu près identique à celle du groupement alcool primaire de l' α -méthyl-D-mannopyranoside par rapport à leur groupement cis-glycol. Or, la vitesse d'oxydation est très différente. L'empêchement dû à la fonction alcool primaire n'a pas de commune mesure avec l'empêchement dû au groupement méthoxy qui semble relativement négligeable.

S'il est légitime d'étendre ces conclusions au cas des diholosides non réducteurs, en revanche l'oxydation des diholosides réducteurs semble être soumise à d'autres facteurs. Nous nous proposons d'interpréter ce phénomène dans la suite.

Deux diholosides non réducteurs ont été étudiés :

a) le tréhalose ou α -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 1)- α -D-glucopyranose, constitué par deux molécules d' α -glucose liées par leurs fonctions réductrices : la liaison osidique intéresse donc le carbone 1 de chaque molécule d' α -glucose ;

b) le saccharose ou α -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fructofuranose résultant de la liaison d'une molécule d' α -glucose à une molécule de fructofuranose : la liaison s'effectue entre le carbone 1 de la molécule d' α -glucose et le carbone 2 du fructose.

Les résultats enregistrés avec le tréhalose sont en accord total avec ce qui pouvait être déduit de l'étude de sa structure. L'examen des tableaux X à XIII fait ressortir l'identité des résultats obtenus avec le tréhalose et avec l' α -méthylglucoside ; il est en effet légitime d'envisager

que l'orientation des hydroxyles est identique dans ces deux composés, à ceci près que le tréhalose est constitué de deux cycles correspondant à l' α -méthylglucoside.

L'interprétation des résultats enregistrés avec le saccharose est déjà plus compliquée. Ce diholoside est plus rapidement oxydé que le tréhalose ou l' α -méthylglucoside, bien que ne possédant que des hydroxyles en position trans ; il semble que cette différence dans la vitesse d'attaque puisse être attribuée non pas au cycle glucopyranose qui possède la même conformation que le cycle de l' α -glucoside, mais au cycle fructofuranose. Ce dernier ne supporte que deux hydroxyles en position trans ; il s'oxyde cependant plus facilement qu'un cycle à six atomes.

En revanche, il semble impossible de prévoir la vitesse d'attaque des diholosides réducteurs à partir de la position des hydroxyles (en cis ou en trans) sur les cycles. Cette hypothèse ne permet pas d'expliquer pourquoi les diholosides réducteurs s'oxydent à des vitesses beaucoup plus grandes que les diholosides non réducteurs ou que les méthylsides.

Le mélibiose (α -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-D-glucose) s'oxyde très rapidement par rapport au lactose (β -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-D-glucose). De même, le maltose (α -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-D-glucose) est moins résistant à l'attaque par l'acide periodique que le lactose, bien qu'il soit dépourvu du groupement cis-glycol et que le lactose possède une paire d'hydroxyles en cis.

Si enfin, on compare ces vitesses d'attaque avec celles des diholosides non réducteurs, en relation avec le nombre de groupements hydroxyles en cis, il est patent que cette interprétation devient totalement impossible. Il est alors nécessaire de considérer le fait que la présence ou l'absence d'une fonction réductrice modifie très largement les conditions d'oxydation : ceci est en accord avec les résultats obtenus lors d'un travail antérieur (54). Le groupement alcool primaire-aldéhyde est très rapidement oxydé par rapport aux fonctions α -glycol ; il est alors possible d'interpréter les différentes vitesses d'oxydation des diholosides réducteurs, en relation avec la position de la fonction réductrice par rapport à la liaison osidique. L'oxydation est d'autant plus rapide que la liaison osidique intéresse un atome de carbone plus éloigné de la fonction réductrice. Ainsi le mélibiose dont la liaison s'effectue en (1 $\rightarrow$ 6) s'oxyde très rapidement ; le maltose et le lactose dont la liaison se trouve en (1 $\rightarrow$ 4) s'oxydent moins rapidement que le précédent ; le laminaribiose (β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-D-glucose) s'oxyde très lentement ; quand au sophorose (β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-D-glucose), bien que possédant un pouvoir réducteur, il s'apparente par son comportement vis-à-vis de l'acide periodique, aux diholosides non réducteurs, puisque la liaison osidique s'effectue en (1 $\rightarrow$ 2). Le carbone configu au carbone porteur de la fonction réductrice ne supporte donc pas de groupement hydroxyle ; toute possibilité d'attaque de l'acide periodique entre les atomes de carbone 1 et 2 est donc exclue. L'acide periodique ne pouvant plus attaquer la liaison possédant un pouvoir réducteur, ne réagit que sur des fonctions α -glycol ; ceci nous ramène au cas des diholosides non réducteurs :

cette hypothèse permet d'interpréter le fait que le sophorose s'oxyde d'une manière voisine de celle du tréhalose.

Ainsi donc, pour les diholosides réducteurs, il faut admettre que l'attaque se fait préférentiellement entre les carbones 1 et 2 ; ce fait est confirmé par les résultats que nous exposerons dans la suite ; de cette attaque il résulte un diholoside possédant un atome de carbone de moins que le diholoside initial, lequel possède à nouveau une fonction réductrice contiguë à un hydroxyle (à l'exception du laminaribiose) ; comme ce groupement s'oxyde préférentiellement à un groupement α -glycol, le processus recommence jusqu'à ce que la fonction réductrice se trouve contiguë au carbone supportant la liaison osidique.

Si l'on considère un diholoside réducteur (1 $\rightarrow$ 6), par exemple le mélibiose, il est possible de mettre en évidence la succession : galactosido-(1 $\rightarrow$ 6)-glucose, galactosido-(1 $\rightarrow$ 5)-arabinose, galactosido-(1 $\rightarrow$ 4)-érythrose, galactosido-(1 $\rightarrow$ 3)-glycéraldéhyde, galactosido-(1 $\rightarrow$ 2)-glycolaldéhyde. A ce stade il n'existe plus de possibilité d'oxydation de la fonction réductrice et l'attaque ne peut plus intéresser que les fonctions α -glycol du cycle α -glucopyranose. Il est donc évident que même pour des concentrations assez grandes en acide periodique, il subsiste pendant très longtemps dans le milieu réactionnel, des composés possédant un groupement aldéhyde lié à un carbone porteur d'un groupement hydroxyle.

D'une manière identique, le glucosido-(1 $\rightarrow$ 4)-glucose fournit du glucosido-(1 $\rightarrow$ 3)-arabinose, puis du glucosido-(1 $\rightarrow$ 2)-érythrose. Dans ces conditions, le milieu s'appauvrit beaucoup plus rapidement en composé possédant le groupement aldéhyde-alcool secondaire, que dans le cas des diholosides (1 $\rightarrow$ 6). De cette manière, il est possible d'expliquer l'attaque beaucoup plus lente des diholosides (1 $\rightarrow$ 4).

Cette hypothèse permet d'interpréter le fait que le maltose et le lactose s'oxydent à une vitesse à peu près similaire pour les faibles quantités d'acide periodique alors que pour une concentration de 40 % de la quantité d'acide periodique réductible en présence d'un excès d'oxydant, la vitesse d'attaque du maltose se ralentit. Effectivement, nous le démontrerons dans la suite, le stade intermédiaire correspond au galactosido-(1 $\rightarrow$ 2)-érythrose comme produit d'oxydation du lactose et au glucosido-(1 $\rightarrow$ 2)-érythrose comme produit d'oxydation du maltose ; le galactosido-(1 $\rightarrow$ 2)-érythrose possède un groupement hydroxyle en cis alors que le glucosido-(1 $\rightarrow$ 2)-érythrose n'en possède pas. Pour cette raison ce dernier composé s'oxyde moins rapidement que le précédent, ce qui se traduit dans notre expérimentation par une diminution de la rapidité d'attaque du maltose pour les fortes concentrations en acide periodique.

Néanmoins, cette différence est relativement peu importante, le reste érythrose de la molécule possédant encore en 3-4 une fonction α -glycol (alcool primaire-alcool secondaire). Or, dans un travail précédent, nous avons constaté que le groupement alcool primaire-alcool secondaire était oxydé préférentiellement au groupement alcool secondaire-alcool secondaire (35, 54).

Cette interprétation est encore valable dans le cas du laminaribiose (glucosido-(1 → 3)-glucose) qui est scindé en glucosido-(1 → 2)-arabinose. A partir de ce moment l'oxydation ne peut plus porter que sur des groupements α -glycol : de ce fait, la vitesse d'oxydation diminue d'autant ; lorsque le laminaribiose est oxydé par une quantité d'acide periodique égale à 5 % de la quantité réductible en présence d'un excès d'oxydant, la réaction est relativement rapide : 50 % de l'oxydant sont réduits en moins de 5 minutes et 75 % en 7 minutes (tabl. XIII).

En revanche, pour des concentrations en acide periodique correspondant à 20 % puis à 40 % de la quantité réductible en présence d'un excès d'oxydant, la vitesse d'attaque se ralentit très notablement : nous expliquons ce phénomène par la cyclisation de la molécule d'arabinose de ce composé. Le reste arabinose du glucosido-(1 → 2)-arabinose ainsi formé se cyclise par établissement d'une liaison oxydique entre les atomes de carbone 1 et 5. Le composé bicyclique qui en résulte ne possède plus de fonction alcool primaire et de ce fait les possibilités d'oxydation de la liaison alcool primaire-alcool secondaire disparaissent. La rupture ne peut plus intervenir qu'entre deux atomes de carbone porteurs de fonctions alcool secondaire, entraînant le ralentissement considérable de la vitesse d'oxydation.

Enfin, dans le cas du sophorose, nous constatons que l'oxydation s'effectue très lentement : les résultats sont à peu près superposables à ceux obtenus pour le tréhalose ou pour l' α -méthyl-D-glucoside ; ce résultat était prévisible puisqu'il est démontré que ce diholoside réducteur est, du point de vue de l'oxydation periodique, équivalent à un diholoside non réducteur.

II. — *Evaluation des composés formés au cours des oxydations.*

En vue de confirmer ces hypothèses, nous avons entrepris une série d'expériences ayant pour but de mettre en évidence les quantités d'acide formique et de formaldéhyde libérées sous l'influence de faibles doses d'acide periodique.

Technique analytique.

Les oxydations sont effectuées à l'obscurité, en milieu aqueux à une température comprise entre 0 et + 2° C.

A une solution 0,1 M de lactose, nous ajoutons des doses variables d'acide periodique libre (HIO_4) en solution 0,05 M. Après 24 heures de contact :

1. l'acide formique libéré est titré alcalimétriquement après hydrolyse des esters formiques par chauffage durant 20 heures à 50°, en tube scellé ;

2. le formaldéhyde est recherché à l'aide de dimédon en milieu, tamponné à pH 4,6.

Parallèlement, le milieu réactionnel est désionisé par chromatographie sur résine échangeuse d'ions (Amberlite IRA 400 forme acétate) à raison de 2 ml de résine humide pour 1 mEq d'acide periodique, puis concentré sous vide partiel à basse température (45° C). Le sirop ainsi obtenu est chromatographié sur papier avant et après hydrolyse sulfurique (H₂SO₄ N, 2 heures à 100° C). Les quantités d'acide periodique utilisées correspondent à 2, 5, 10, 20, 30 et 40 % de la quantité d'acide periodique réductible en présence d'un excès d'oxydant.

Discussion des résultats.

a) Mélibiose.

Le mélibiose consommant pour s'oxyder en trialdéhyde 6 molécules d'acide periodique, nous ajoutons 0,12, 0,30, 0,60, 1,20, 1,80 et 2,40 molécules d'acide periodique pour une molécule de diholoside.

Dans ces conditions (tabl. XV), il se forme entre 0,86 et 0,79 molécule d'acide formique pour une molécule d'acide periodique consommé ; ainsi lorsqu'une molécule de mélibiose réagit sur 0,15 molécule d'acide periodique, 86 % de l'attaque s'effectue au dépens d'une fonction aldéhyde

TABLEAU XV
Oxydation du mélibiose par de faibles quantités d'acide periodique

Rapport moléculaire PI/Mélibiose	Acide formique	Formaldéhyde
0,12	0,86	0
0,30	0,86	0
0,60	0,88	0
1,20	0,88	0
1,80	0,83	0
2,40	0,79	0
6,00	0,83	0

Les résultats sont exprimés en molécule de corps formés par molécule d'acide periodique réduit.

donc, par l'extrémité réductrice de la chaîne. Cette remarque s'applique également pour les concentrations en acide periodique inférieures à 1,50 molécule par molécule de mélibiose. Ensuite, le nombre de molécules présentant une fonction réductrice diminue par rapport au nombre de molécules ne supportant plus que des fonctions α -glycol. De ce fait, les réactions « parasites » intéressant les groupements α -glycol deviennent prépondérantes, entraînant une diminution de la quantité d'acide formique formé en fonction de la concentration en acide periodique. Nous avons vérifié d'autre part, qu'en aucun cas, il n'apparaissait de formaldéhyde.

La chromatographie sur papier a mis en évidence les composés prévisibles, à savoir à côté du mélibiose non oxydé, du galactosido-arabinose, du galactosido-érythrose, du galactosido-glycéraldéhyde et du galactosido-glycolaldéhyde. Tous ces composés ont été identifiés (4^e partie).

b) Maltose, lactose.

Ces deux sucres consomment 5 molécules d'acide periodique par molécule d'ose pour donner le « tétraldéhyde » correspondant ; nous avons mis en réaction 0,10, 0,25, 0,50, 1,00, 1,50 et 2 molécules d'acide periodique par molécule d'ose. Les résultats du dosage de l'acide formique sont consignés dans le tableau XVI. Les remarques formulées à propos du mélibiose restent valables.

Il existe néanmoins entre le maltose et le lactose une certaine différence pouvant s'expliquer par le fait que ce dernier possède un groupement cis-glycol plus facilement attaquable qu'un groupement trans-glycol ; l'attaque « parasite » d'une fonction α -glycol (qui ne libère pas d'acide formique) est donc plus « probable » dans le cas du lactose que dans le cas du maltose.

TABLEAU XVI

Oxydation du maltose et du lactose par de faibles quantités d'acide periodique

Rapport moléculaire PI/diholoside	Maltose		Lactose	
	Acide formique	Formaldéhyde	Acide formique	Formaldéhyde
0,10	0,95	0	0,85	0
0,25	0,95	0	0,87	0
0,50	0,90	0	0,85	0
1,00	0,86	traces	0,79	0
1,50	0,84	0,01	0,74	0
2,00	0,82	0,02	0,72	traces
5,00	0,60	0,20	0,60	0,20

Les résultats sont exprimés en molécule de corps formés par molécule d'acide periodique réduit.

On peut admettre qu'en présence de 0,50 molécule d'acide periodique par molécule d'ose, la réaction s'effectue pour 85 à 95 %, sur les fonctions réductrices. Nous avons d'ailleurs vérifié l'absence de formaldéhyde, ce qui exclut, pour des concentrations en acide periodique inférieures à 1,50 molécules par molécule d'ose, toute attaque entre les atomes de carbone 5 et 6 de la partie réductrice.

Pour des concentrations en acide periodique égales à 1,50 et 2 molécules par molécule de diholoside, le lactose libère une très faible quantité de formaldéhyde. Le maltose, dans ces conditions, en libère une quantité plus importante ; nous interprétons ce phénomène par le fait que le

maltose ne possède pas de fonction cis-glycol alors que le lactose en possède une ; la fonction cis-glycol du lactose, dont l'attaque est relativement aisée, entre en concurrence avec la liaison alcool primaire-alcool secondaire ; ce fait est à exclure dans le cas du maltose.

Ces résultats sont confirmés par la chromatographie sur papier qui révèle l'existence dans le cas du lactose, pour des concentrations inférieures à 2 molécules d'acide periodique par molécule de lactose, à côté du lactose non oxydé, du galactosido-arabinose, migrant comme un témoin préparé suivant WHISTLER et YAGI (95) et du galactosido-érythrose migrant comme un témoin préparé suivant PERLIN et coll. (28). Il est à noter qu'au fur et à mesure que la concentration en acide periodique augmente, la concentration en galactosido-érythrose augmente aux dépens de celle de ses homologues supérieurs. Enfin pour 2 molécules d'acide periodique, il apparaît un composé se révélant en rose avec la β -naphtylamine ; cette coloration spécifique permet de lui attribuer une structure de polyaldéhyde (66). Il en est de même du maltose pour lequel il a été possible de caractériser du glucosido-arabinose migrant comme un témoin préparé suivant WHISTLER et YAGI et du glucosido-érythrose migrant comme un témoin préparé suivant PERLIN et coll. De même, nous avons caractérisé des composés se révélant en rouge par la β -naphtylamine, auxquels nous attribuons une structure polyaldéhydrique.

c) Laminaribiose.

Chaque molécule de ce diholoside consomme pour s'oxyder en « tétraldéhyde » 5 molécules d'acide periodique ; nous avons mis en réaction, comme dans le cas du maltose et du lactose, 0,10, 0,25, 0,50, 1,00 1,50 et 2 molécules d'acide periodique par molécule d'ose.

Les résultats du dosage de l'acide formique et du formaldéhyde sont consignés dans le tableau XVII.

TABLEAU XVII
Oxydation du laminaribiose par de faibles quantités d'acide periodique

Rapport moléculaire PI/laminaribiose	Acide formique	Formaldéhyde
0,10	0,80	0,15
0,25	0,76	0,16
0,50	0,74	0,15
1,00	0,73	0,12
1,50	0,71	0,13
2,00	0,69	0,15
5,00	0,60	0,20

Les résultats sont exprimés en molécule de corps formés par molécule d'acide periodique réduit.

Pour des faibles doses d'acide periodique, il se forme déjà des quantités importantes de formaldéhyde ; la rupture s'effectue entre les atomes de carbone 5 et 6 de la partie réductrice. Etant donné, d'autre part, la quantité importante d'acide formique libéré lors de ces attaques initiales, il est légitime de conclure que l'acide periodique exerce son action préférentiellement sur le reste réducteur de la molécule, c'est-à-dire entre les atomes de carbone 1 et 2 ; ces constatations sont conformes aux résultats déjà obtenus, d'autant que l'unité non réductrice ne possède que des hydroxyles en position trans, donc en position peu favorable à la formation du complexe cyclique initial.

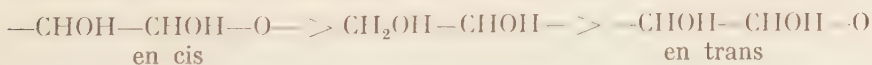
En réalité, si l'attaque entre les atomes de carbone 5 et 6, et 1 et 2 de la partie réductrice était sélective, la somme du nombre de molécules d'acide formique formé et du nombre de molécules de formaldéhyde libéré pour une molécule d'acide periodique devrait être égale à 1.

Au fur et à mesure que les doses d'acide periodique augmentent, la valeur de cette somme (acide formique + formaldéhyde) décroît très nettement. On peut interpréter ce phénomène par le fait que le nombre de molécules pouvant réagir de la sorte s'amenuise par rapport au nombre de molécules dont l'unité réductrice a été oxydée. La chromatographie sur papier confirme cette hypothèse puisqu'elle permet de caractériser du glucosido-(1 → 2)-arabinose.

L'attaque du laminaribiose a lieu très préférentiellement entre les atomes de carbone 1 et 2 de l'unité glucose réductrice, puis, d'une manière moins intense, entre les atomes de carbone 4 et 5 de ce même reste. L'attaque du cycle pyranique de l'unité glucose non réductrice s'avère beaucoup plus difficile et ne s'effectue que lorsque les possibilités d'attaque sur l'autre partie s'amenuisent, le rapport du nombre de molécules en présence de l'une ou l'autre sorte diminuant.

Cette étude du laminaribiose démontre qu'une fois l'attaque effectuée en (1 → 2) sur l'unité réductrice, une attaque ultérieure ne peut plus fournir d'acide formique dans un premier temps ; seule peut intervenir, soit l'ouverture du cycle pyranique de la partie non réductrice, soit la rupture de la liaison entre les atomes de carbone 3 et 4 de l'arabinose avec production d'une molécule de glycolaldéhyde. Ensuite, les molécules ainsi formées peuvent se réoxyder en donnant du formaldéhyde et de l'acide formique.

L'étude du laminaribiose permet donc de classer les fonctions attaquables par l'acide periodique par ordre de vitesse décroissante :



d) Sophorose.

Le sophorose consomme, pour donner le « tétraldéhyde » correspondant, 3 molécules d'acide périodique par molécule de diholoside. Nous avons mis en réaction : 0,06, 0,15, 0,60, 0,90 et 1,20 molécules d'acide periodique par molécule de diholoside.

Pour de faibles quantités d'acide periodique, il n'apparaît que peu d'acide formique (tabl. XVIII).

TABLEAU XVIII
Oxydation du sophorose par de faibles quantités d'acide periodique

Rapport moléculaire PI/sophorose	Acide formique	Formaldéhyde
0,06	0,13	0
0,15	0,15	0
0,30	0,17	0
0,60	0,20	0
0,90	0,22	0
1,20	0,26	0
3,00	0,33	0

Les résultats sont exprimés en molécule de corps formés par molécule d'acide periodique réduit.

La première attaque, puisque la fonction réductrice du fait de sa position contiguë à la liaison osidique ne peut réagir avec l'acide periodique, s'effectue aux dépens d'un groupement trans-glycol avec création de deux fonctions aldéhydes.

Si cette ouverture du cycle intéresse la fraction non réductrice, l'attaque ultérieure s'effectue préférentiellement sur le groupement aldéhyde-alcool secondaire ainsi créé avec libération d'acide formique.

Dans le cas contraire, une telle possibilité n'existe pas. Etant donné qu'il apparaît des quantités relativement importantes d'acide formique pour des doses plus importantes d'acide periodique, il semble que cette première possibilité soit la plus « probable ».

Nous avons vérifié qu'il n'apparaît pas de formaldéhyde.

e) Tréhalose.

Le tréhalose consomme pour donner le tétraldéhyde correspondant, 4 molécules d'acide periodique par molécule de diholoside ; nous lui avons opposé 0,08, 0,20, 0,40, 0,80, 1,20 et 1,60 molécules d'acide periodique par molécule de diholoside. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau XIX.

Pour de faibles doses d'acide periodique, il ne se forme que de très faibles quantités d'acide formique, phénomène prévisible puisque le tréhalose ne présente pas de fonctions réductrices. Dans ces conditions, la première attaque ne peut se réaliser qu'aux dépens d'une fonction α -glycol avec création de deux fonctions aldéhyde. Aussitôt ces fonctions aldéhydes créées, le composé intermédiaire est oxydé préférentiellement.

Pour une dose d'acide periodique égale à 0,20 molécule il ne se forme que 0,10 molécule d'acide formique par molécule d'acide periodique

TABLEAU XIX

Oxydation du tréhalose par de faibles quantités d'acide periodique

Rapport moléculaire PI/tréhalose	Acide formique	Formaldéhyde
0,08	0,03	0
0,20	0,10	0
0,40	0,29	0
0,80	0,34	0
1,20	0,36	0
1,60	0,36	0
4,00	0,50	0

Les résultats sont exprimés en molécule de corps formés par molécule d'acide periodique réduit.

consommé ; cette quantité d'acide formique croît alors assez régulièrement jusqu'à une dose d'acide periodique égale à 1 molécule. Ensuite il semble s'établir une sorte de « vitesse de régime » qui résulte d'une part de l'attaque de molécules non encore oxydées (sans libération d'acide formique) et d'autre part, de l'attaque concomitante d'autres molécules dont l'un ou les deux cycles sont ouverts et qui, de ce fait, peuvent donner naissance à de l'acide formique.

Nous avons vérifié dans ces conditions qu'il n'apparaît pas de formaldéhyde.

La chromatographie sur papier met en évidence des composés se révélant en rose avec la β -naphtylamine et présentant donc une structure de polyaldéhyde.

f) Saccharose.

Le saccharose consomme, pour donner le tétraldéhyde correspondant, 3 molécules d'acide periodique par molécule de diholoside. Nous avons mis en réaction 0,06, 0,15, 0,30, 0,60, 0,90 et 1,20 molécules d'acide periodique par molécule de diholoside.

Dans ces conditions, nous obtenons des résultats qui sont comparables à ceux obtenus avec le tréhalose. Ces résultats n'entraînent aucun commentaire particulier et une interprétation voisine de celle proposée pour le tréhalose s'applique au cas présent (tabl. XX).

Nous avons vérifié de même qu'il n'y avait pas de libération de formaldéhyde.

La chromatographie sur papier nous a donné des résultats comparables à ceux obtenus avec le tréhalose.

CONCLUSIONS.

Ces études permettent d'évaluer l'affinité des différents groupements pour l'acide periodique.

TABLEAU XX

Oxydation du saccharose par de faibles quantités d'acide periodique

Rapport moléculaire PI/saccharose	Acide formique	Formaldéhyde
0,06	0,10	0
0,15	0,16	0
0,30	0,16	0
0,60	0,20	0
0,90	0,21	0
1,20	0,24	0
3,00	0,33	0

Les résultats sont exprimés en molécule de corps formés par molécule d'acide periodique réduit.

La formation du complexe intermédiaire acide periodique-glycol, premier stade d'une oxydation periodique, est plus rapide pour un groupement cis-glycol que pour le groupement trans-glycol fixé sur un cycle pyranique.

La proximité d'un constituant méthoxy ou alcool primaire est d'autant plus gênante que celui-ci est plus proche et situé en cis par rapport au groupement glycol. L'empêchement dû au groupement polaire alcool primaire est beaucoup plus intense que celui dû au groupement méthoxy non polaire ; mais lorsqu'il apparaît dans la molécule un groupement réducteur sur un atome de carbone contigu à une fonction alcool secondaire, l'attaque s'effectue très préférentiellement sur cette partie de la molécule.

Dans le cas des diholosides réducteurs qui réagissent comme si la partie réductrice était libre, l'attaque s'effectue préférentiellement entre les atomes de carbone 1 et 2. Il en résulte que l'oxydation des diholosides est d'autant plus rapide que la fonction réductrice est plus éloignée de l'atome de carbone porteur de la liaison osidique. Ainsi un diholoside (1 → 6) s'oxyde plus facilement qu'un diholoside (1 → 4), lequel plus rapidement qu'un diholoside (1 → 3) qui s'oxyde lui-même plus rapidement que les diholosides (1 → 2) et (1 → 1).

Lorsqu'il n'y a plus possibilité d'attaque sur une fonction réductrice, la réaction intéresse alors soit la liaison entre les atomes de carbone porteurs, respectivement, d'une fonction alcool primaire et d'une fonction alcool secondaire avec libération de formaldéhyde, soit une liaison entre les atomes de carbone supportant deux fonctions alcool secondaire en cis.

Pour cette raison, l'attaque du maltose et du lactose, rapide au départ, se ralentit ensuite plus fortement pour le maltose que pour le lactose.

Toutes ces considérations nous permettent de classer les différentes fonctions par affinité croissante pour l'acide periodique de la manière suivante :

Groupement trans-glycol, groupement alcool primaire-alcool secondaire, groupement cis-glycol, groupement aldéhyde-alcool secondaire.

La différence entre les comportements des groupements alcool primaire-alcool secondaire et cis-glycol est fonction du substituant supporté par un atome de carbone voisin de ces groupements glycol.

Lorsque celui-ci est contigu à un atome de carbone porteur d'une fonction alcool primaire en cis (cas du cycle galactopyranosyl du lactose), la polarité de ce substituant rend le groupement cis-glycol moins oxydable que le groupement alcool primaire-alcool secondaire.

Ce classement n'est évidemment valable que lorsque ces fonctions se trouvent fixées sur un cycle pyranique. Comme nous l'avons vu dans les travaux précédents, ces hypothèses ne sont plus valables, lorsque la chaîne est linéaire (par exemple dans le cas des polyols) (54).

TROISIÈME PARTIE

**ISOLEMENT ET IDENTIFICATION
DES PRODUITS D'OXYDATION
DE QUELQUES DIHOLOSIDES RÉDUCTEURS**

(Mélibiose, maltose, lactose, laminaribiose)

INTRODUCTION

Des recherches antérieures sur l'oxydation des aldohexoses, en particulier du glucose, du mannose et du galactose, par l'acide periodique ont montré que l'attaque de ces composés débute par l'extrémité réductrice de la molécule, la rupture de la liaison entre les atomes de carbone 1 et 2 s'accompagnant de la formation des pentoses correspondants.

L'utilisation systématique de quantités d'oxydant très inférieures à celles qui seraient normalement consommées par le réducteur lorsqu'on le met en présence d'un excès d'acide periodique, a permis de caractériser les produits intermédiaires ; ainsi le glucose et le mannose conduisent à l'arabinose, alors que le galactose fournit du lyxose. A leur tour, dans ces conditions, les pentoses sont eux-mêmes dégradés et les tétroses correspondants apparaissent dans le milieu réactionnel (34, 54).

Cette attaque préférentielle de l'extrémité réductrice de la chaîne carbonée est confirmée comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, par l'absence de formaldéhyde et la présence d'une forte proportion d'acide formique dans les produits d'oxydation des diholosides ($1 \rightarrow 6$) et ($1 \rightarrow 4$), à condition, toutefois, que la quantité d'acide periodique mise en réaction reste inférieure à 2 molécules par molécule d'ose.

Comme nous l'avons vu, ces constatations excluent toute éventualité d'une attaque entre les atomes de carbone 5 et 6.

L'étude de l'oxydation des polyols linéaires a d'ailleurs confirmé que dans une solution contenant à la fois des polyols et des aldoses, l'acide periodique attaque de préférence les groupements réducteurs aux groupements α -glycol. Ceci est en parfait accord avec les résultats que nous avons observés lors de l'étude du chapitre précédent.

D'autre part, l'action du tétracétate de plomb est à rapprocher de celle de l'acide periodique. Les travaux de PERLIN et coll. (77, 78, 79) ont prouvé le parallélisme des mécanismes d'action de ces deux oxydants vis-à-vis des hexoses.

Dans ces conditions et à l'examen des résultats fournis par l'étude précédente, il est légitime de penser que cette analogie peut être étendue aux diholosides réducteurs, en particulier au mélibiose, au lactose, au maltose et au laminaribiose.

Le fait que dans des conditions déterminées, l'hypochlorite de sodium est capable de détacher à peu près sélectivement l'atome de carbone 1 de

la partie réductrice du maltose et du lactose, avec formation respective d' α -glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-D-arabinose et de β -galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-D-arabinose (95) ne peut que renforcer cette hypothèse.

Les études cinétiques précédentes nous ont permis d'envisager la possibilité, pour les diholosides réducteurs, d'être dégradés d'une manière identique par l'acide periodique et par le tétracétate de plomb.

Dans la suite, nous avons isolé et caractérisé les diholosides intermédiaires se formant au cours de ces oxydations periodiques, c'est-à-dire les diholosides possédant 11, 10, 9 et 8 atomes de carbone.

TRAVAUX PERSONNELS

Techniques analytiques.

Les diholosides sont oxydés en solution 0,1 M par l'acide periodique libre en solution 0,05 M ; les doses d'acide periodique utilisées correspondent à une molécule par molécule de diholoside.

Après 24 heures de contact à une température comprise entre 0 et + 2° C à l'obscurité, le milieu réactionnel est désionisé par chromatographie sur résine échangeuse d'anions (Amberlite IRA 400 forme acétate) à raison de 2 ml de résine humide pour 1 mEq d'acide periodique, puis concentré sous vide partiel à basse température (45° C) ; le sirop ainsi obtenu est traité comme il est indiqué pour chacun des différents sucres.

Mélibiose.

Nous avons utilisé deux dilutions successives : une dilution qui correspond à une molécule d'acide periodique par molécule de mélibiose, et une dilution qui correspond à 0,25 molécule d'acide periodique par molécule de diholoside.

Dans cette seconde éventualité, le mode opératoire est superposable.

Les solutions d'ose sont alors traitées par la dichloro-2-5-phénylhydrazine.

Une quantité de dichloro-2-5-phénylhydrazine égale à deux fois le poids de diholoside mis en réaction est solubilisée dans une quantité d'acide acétique égale au volume de liquide dans lequel sont dissous les oses dont on désire préparer les osazones. Les liqueurs contenant les diholosides sont mélangées avec la solution acétique de dichloro-2-5-phénylhydrazine, puis placées au bain-marie bouillant pendant 3 heures.

Après ce contact, la solution obtenue est refroidie puis additionnée de deux fois son volume d'eau distillée. Après repos d'une nuit, la solution est filtrée sur verre fritté. Le résidu insoluble est lavé à l'eau puis séché. Ce résidu correspondant au produit d'oxydation de 1 molécule de mélibiose pour 1 molécule d'acide periodique, est épuisé par le benzène et les solutions benzéniques sont alors chromatographiées sur alumine comme il est décrit dans les techniques générales.

Lors de l'oxydation d'une molécule de mélibiose par 0,25 molécule d'acide periodique, le résidu est dissout dans l'alcool absolu ; ces solutions alcooliques sont purifiées par chromatographie circulaire sur papier comme il est décrit au chapitre « Techniques générales ».

Ces techniques permettent d'obtenir des fractions pures dont la structure est déterminée.

Sur une partie aliquote le chlore est dosé potentiographiquement par argentométrie après minéralisation dans la bombe de WURZSCHMITT (96) ; une autre partie aliquote est dissoute dans l'éthanol à 60 % puis oxydée en présence d'un excès d'acide periodique (37). Le formaldéhyde est alors dosé par la réaction de SCHRYVER modifiée, décrite précédemment (chapitre I). Enfin, une dernière partie est hydrolysée en ampoule scellée par chauffage de 3 heures au bain-marie en présence d'acide sulfurique 0,5 N dans l'alcool à 50 %. Le produit d'hydrolyse est neutralisé par le carbonate de strontium et le liquide surnageant est chromatographié sur papier.

Lactose.

Le milieu réactionnel est désionisé et concentré jusqu'à consistance de sirop puis chromatographié sur une colonne de cellulose comme il est décrit au chapitre I. La hauteur de la colonne est de 30 cm et la quantité de produit d'oxydation ajoutée équivaut à 50 mg de lactose par centimètre carré. Le débit d'écoulement de la colonne (28 cm² de section) est voisin de 40 ml par heure. Les oses séparés ont été identifiés par chromatographie sur papier en prenant comme témoin de référence des composés préparés soit comme il a été décrit plus haut par la méthode proposée par WHISTLER et YAGI, soit par la technique au tétracétate de plomb décrite par PERLIN et coll.

Une partie aliquote est desséchée sous vide à poids constant, pesée, puis oxydée par une quantité connue d'acide periodique. La quantité d'acide periodique consommée est dosée par la technique colorimétrique précédemment décrite (chapitre I). Enfin, une autre partie est hydrolysée par l'acide sulfurique 1 N et le produit d'hydrolyse après neutralisation à l'aide de carbonate de strontium est chromatographié sur papier. Après dilution, les quantités d'oses libérés par cette hydrolyse sont dosées par la méthode de SOMOGYI-NELSON (91, 74). L'osazone et l'hydrazone correspondantes sont préparées comme il a été décrit plus haut, par chauffage au bain-marie bouillant pendant 2 heures d'un mélange constitué d'une partie d'oses et de deux parties de dichloro-2-5-phénylhydrazine dans l'acide acétique à 50 %. Cette osazone et cette hydrazone sont traitées comme il a été décrit au paragraphe précédent.

Mallose. Laminaribiose.

Les techniques utilisées sont comparables à celles décrites pour le mélibiose.

Résultats et discussion.

Ces techniques nous ont permis de caractériser tous les diholosides intermédiaires dont l'existence avait été envisagée lors de l'étude des résultats de la deuxième partie de ce travail. Ces résultats sont consignés dans le tableau I.

Mélibiose.

Dans les produits d'oxydation de ce diholoside, nous avons caractérisé les composés suivants : galactosido-(1 → 5)-arabinose, galactosido-(1 → 4)-érythrose, galactosido-(1 → 3)-glyceraldéhyde, galactosido-(1 → 2)-glycolaldéhyde.

Nous envisagerons successivement les résultats qui nous ont conduits à proposer les structures des différents sucres.

a) Galactosido-(1 → 5)-arabinose.

Il a été impossible de séparer l'osazone chlorée de cet ose par chromatographie sur alumine à partir d'un produit d'oxydation résultant de l'attaque de 1 molécule de diholoside par 1 molécule d'acide periodique. Il a été nécessaire d'utiliser un produit d'oxydation provenant de l'attaque d'une molécule de mélibiose par 0,25 molécule d'acide periodique. Le diholoside envisagé donne une osazone qui intéresse les atomes de carbone 1 et 2 de la fraction arabinose. Ce composé est homogène en chromatographie circulaire sur papier. La chromatographie des produits d'hydrolyse sulfurique de ce composé fournit du galactose, à l'exclusion d'arabinose. Ce fait permet d'affirmer que dans le diholoside envisagé l'extrémité réductrice de l'arabinose n'est pas engagée dans la liaison osidique.

Le dosage du chlore fournit une teneur en halogène égale à 22,50 % (théorie 22,57 %) ; les quatre atomes de chlore par molécule identifient l'osazone et, de ce fait, la fraction arabinose n'est engagée dans une liaison osidique ni par son atome de carbone 1, ni par son atome de carbone 2.

Enfin, l'oxydation periodique de cette osazone ne libère pas de formaldéhyde, ce qui exclut toute possibilité de fixation de la liaison osidique sur l'atome de carbone 3 de l'arabinose ; dans le cas contraire, l'acide periodique aurait rompu la liaison 4-5 avec libération d'une molécule de formaldéhyde.

Malheureusement, ces expériences sont incapables de démontrer que la liaison osidique intéresse l'atome de carbone 5. Cette incertitude n'a pu être levée puisque l'acide periodique n'oxyde pas stoechiométriquement les osazones [Courtois et coll. (37)]. La fraction azotée de la molécule manifeste un pouvoir réducteur non négligeable vis-à-vis de l'acide periodique. Dans ces conditions, toute tentative d'évaluation quantitative de l'acide periodique consommé est illusoire.

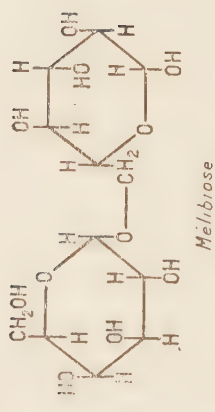
Bien que l'équivoque subsiste sur l'engagement des atomes de carbone 4 ou 5 dans la liaison osidique, les résultats exposés dans la suite ne sauraient expliquer une migration de la liaison osidique de l'atome de carbone 5 sur l'atome de carbone 1. Dans tous les composés de dégradation de ce diholoside, dont nous avons déterminé la structure dans la

TABLEAU I
Résultats enregistrés au cours de l'étude des diholosides réducteurs

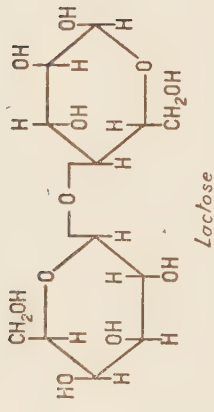
	G-Arabinose	G-Erythrose	G-Glyceraldéhyde	G-Glycolaldéhyde
Mélibiose	<i>Diholosite</i> Galactose Arabinose = 0,94 <i>Osazone</i> Chlore : 22,50 % HCHO : 0 Hydrolyse Galactose : + Arabinose : 0 Liaison (1 → 5)	<i>Diholosite</i> Galactose Arabinose = 1,03 <i>Osazone</i> Chlore : 23,75 % HCHO : 0 Hydrolyse Galactose : + Erythrose : 0 Liaison (1 → 4)	<i>Osazone</i> Chlore : 24,98 % Hydrolyse Galactose : + Glyceraldéhyde : 0 Liaison (1 → 3)	<i>Hydrazone</i> Chlore : 18,85 % Hydrolyse Galactose : + Glycolaldéhyde : 0 Liaison (1 → 2)
Lactose	<i>Diholosite</i> Galactose Arabinose = 0,98 PI : 3,95 mol. <i>Osazone</i> Chlore : 22,29 % HCHO : 0,88 mol. Hydrolyse Galactose : + Arabinose : 0 Liaison (1 → 3)	<i>Diholosite</i> Galactose Erythrose = 1,05 <i>Hydrazone</i> Chlore : 15,82 % Hydrolyse Galactose : + Erythrose : 0 Liaison (1 → 2)		

Maltose	<i>Dihololside</i> Glucose = 1,05 Arabinose <i>Osazone</i> Chlore : 22,85 % HCHO : 0,92 mol. Hydrolyse Glucose : + Arabinose : 0 Liaison (1 → 3)	<i>Dihololside</i> Glucose = 0,95 Erythrose <i>Hydrazone</i> Chlore : 16,15 % HCHO : + Hydrolyse Glucose : + Erythrose : 0 Liaison (1 → 2)	
Laminaribiose .	<i>Dihololside</i> Glucose = 1,1 Arabinose <i>Hydrazone</i> Chlore : 14,96 % Hydrolyse Glucose : + Arabinose : 0 Liaison (1 → 2)		

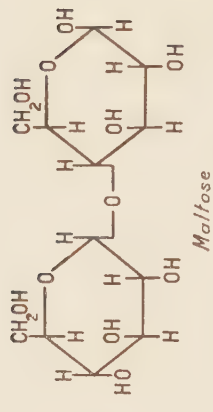
G = galactose ou glucose.



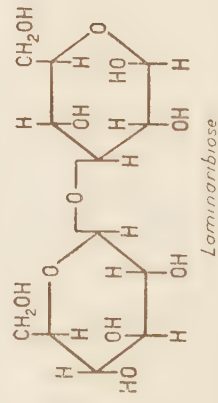
α -D-Galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-D-Glucose



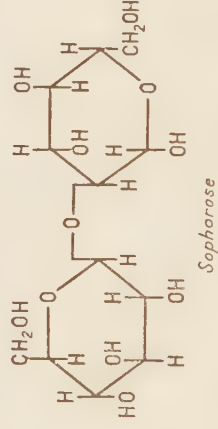
β -D-Galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-D-Glucose



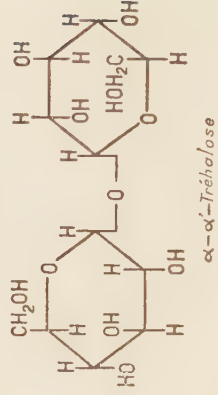
α -D-Glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-D-Glucose



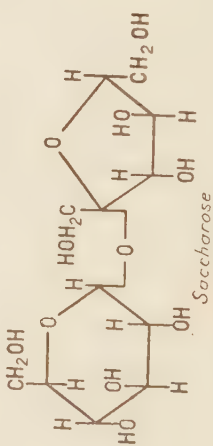
β -D-Glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-D-Glucose



β -D-Glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-D-Glucose



α -D-Glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 1)- α -D-Glucose



α -D-Glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-Fructofuranose

Configuration des diholosides oxydés par l'acide periodique.

TABEAU II

suite, la liaison osidique intéresse l'atome de carbone qui, normalement, devrait être porteur de la fraction alcool primaire.

Le rapport moléculaire galactose/arabinose est égal à 0,94 (calculé 1).

b) Galactosido-(1 → 4)-érythrose.

Des considérations identiques prouvent que le galactose est engagé dans la liaison osidique par son atome de carbone 1 (chromatographie après hydrolyse de l'osazone) et que les atomes de carbone 1 et 2 de l'érythrose peuvent se combiner à la dichlorophénylhydrazine pour donner une osazone. Le composé ainsi isolé contient 23,75 % de chlore (théorie 23,70 %), pourcentage correspondant à 4 atomes de chlore par molécule.

Par oxydation de cette osazone, il n'apparaît pas de formaldéhyde ; l'équivoque portant sur l'atome de carbone impliqué dans la liaison osidique subsiste comme dans le cas précédent. Ces expériences ne permettent pas d'affirmer si celle-ci intéresse l'atome de carbone 3 ou l'atome de carbone 4. Des raisons identiques à celles que nous avons exposées précédemment conduisent à penser que la liaison s'effectue par l'atome de carbone 4.

Le rapport moléculaire galactose/érythrose est égal à 1,03 (calculé 1).

c) Galactosido-(1 → 3)-glycéraldéhyde.

Une technique d'étude identique montre que le galactose est comme dans le cas précédent, engagé dans la liaison osidique par son atome de carbone 1 et que l'aldéhyde glycérique est bien engagé par son atome de carbone 3 ; le dosage du chlore montre que la molécule renferme 24,98 % d'halogène (calculé 24,95 %), pourcentage qui correspond à 4 atomes de chlore par molécule. L'osazone intéresse les atomes de carbone 1 et 2 et, de ce fait, la liaison osidique ne peut qu'être supportée par l'atome de carbone 3.

d) Galactosido-(1 → 2)-glycolaldéhyde.

D'une manière identique, le galactose est lié par son atome de carbone 1 (chromatographie). Ce composé ne fournissant que l'hydrazone correspondante, seul l'atome de carbone 1 de l'aldéhyde glycolique est libre. Le pourcentage de chlore est égal à 18,85 % (calculé 18,60 %) ; ceci prouve qu'il n'existe que 2 atomes de chlore par molécule ; de ce fait la liaison osidique intéresse l'atome de carbone 2 de la fraction glycolaldéhyde.

e) Conclusions.

Ainsi donc, dans les deux derniers composés, galactosido-(1 → 3)-glycéraldéhyde et galactosido-(1 → 2)-glycolaldéhyde, la liaison osidique est portée par l'atome de carbone correspondant à l'atome de carbone 6 du glucose qui était contenu dans la molécule de mélibiose initial. Il n'existe aucune raison pour que dans ces deux derniers composés, la liaison osidique n'ait pas migré alors qu'elle serait déplacée dans les deux premiers composés.

Les résultats que nous avons enregistrés sont conformes à l'étude effectuée dans la seconde partie. Le mélibiose s'oxyde très préférentiellement par sa fonction réductrice en donnant la chaîne de produits : galactosido-(1 → 5)-arabinose, galactosido-(1 → 4)-érythrose, galactosido-(1 → 5)-arabinose, galactosido-(1 → 4)-érythrose, galactosido-(1 → 3)-glycéraldéhyde, galactosido-(1 → 2)-glycolaldéhyde. La partie non réductrice s'oxyde alors en donnant naissance au trialdéhyde correspondant (66).

Maltose.

L'étude du maltose s'effectue dans des conditions identiques ; une molécule de maltose est oxydée par une molécule d'acide periodique. Les diholosides suivants ont été caractérisés : glucosido-(1 → 3)-arabinose, glucosido-(1 → 2)-érythrose.

a) Glucosido-(1 → 3)-arabinose.

La chromatographie sur papier d'un produit d'oxydation a permis d'isoler un composé migrant comme le glucosido-(1 → 3)-arabinose, préparé suivant WHISTLER et YAGI. L'élution de ces taches suivie d'une hydrolyse sulfurique des produits d'élution montre qu'il se forme uniquement du glucose et de l'arabinose ; le dosage du glucose et de l'arabinose fournit un rapport moléculaire glucose/arabinose égal à 1,05 (théorie pour le glucosido-arabinose : 1). Dans ces conditions, il est possible d'affirmer que ce composé est un galactosido-arabinose.

L'hydrolyse sulfurique de l'osazone correspondante fournit uniquement du glucose (à l'exclusion d'arabinose) identifié par chromatographie sur papier. Le glucose est donc engagé par son atome de carbone 1 dans la liaison osidique.

Le dosage du chlore sur cette osazone chlorée fournit un pourcentage en halogène égal à 22,85 % (calculé 22,57 %) ; ce pourcentage correspond à 4,05 molécules de chlore par molécule d'osazone. L'osazone intéresse les atomes de carbone 1 et 2 de l'arabinose qui ne peuvent de ce fait être engagés dans la liaison osidique.

L'oxydation periodique libère 0,92 molécule de formaldéhyde par molécule d'osazone : les atomes de carbone 4 et 5 de l'arabinose portent donc un groupement glycol. La liaison osidique s'effectue entre l'atome de carbone 1 du glucose et l'atome de carbone 3 de l'arabinose. Dans ces conditions, il est possible d'affirmer que ce composé est le glucosido-(1 → 3)-arabinose.

b) Glucosido-(1 → 2)-érythrose.

La chromatographie du produit d'oxydation nous a permis d'isoler un diholoside migrant comme le glucosido-(1 → 2)-érythrose préparé suivant PERLIN ; son hydrolyse sulfurique nous a fourni uniquement du glucose et de l'érythrose, dans un rapport moléculaire égal à 0,95 (théorie pour le glucosido-érythrose : 1).

L'hydrazone chlorée correspondante fournit par hydrolyse du glucose à l'exclusion d'érythrose.

Des raisons identiques à celles que nous avons précédemment décrites permettent de conclure que la liaison osidique intéresse l'atome de carbone 1 du glucose.

Le dosage du chlore indique un pourcentage en halogène égal à 16,15 % (calculé 16,07 %), ce qui correspond à 2,01 atomes de chlore par molécule. Ce diholoside ne donnant naissance qu'à une hydrazone, il en résulte que l'atome de carbone 2 de l'érythrose ne porte pas de fonction hydroxylée et de ce fait est engagé dans la liaison osidique. Ce fait est confirmé par oxydation periodique puisque ce composé libère du formaldéhyde. Les atomes de carbone 3 et 4 sont porteurs de deux fonctions alcool. Ce composé est donc identifié au glucosido-(1 → 2)-érythrose.

c) Conclusions.

Comme le diholoside précédent, le maltose s'oxyde par sa fonction réductrice en donnant du glucosido-(1 → 3)-arabinose, puis du glucosido-(1 → 2)-érythrose. L'oxydation s'effectue après indistinctement, soit sur le reste glucose dont l'atome 1 est engagé dans la liaison osidique, soit comme le démontrent les cinétiques d'oxydation, préférentiellement par l'extrémité non réductrice de la fraction érythrose puisqu'il apparaîtrait assez rapidement du formaldéhyde dans le milieu réactionnel.

Laminaribiose.

La chromatographie du produit résultant de l'oxydation d'une molécule de laminaribiose par une molécule d'acide periodique a permis d'obtenir après élution, un composé qui, par hydrolyse, donne uniquement du glucose et de l'arabinose dans le rapport moléculaire de 1,1 (pour le galactosido-arabinose, théorie : 1).

L'action de la dichloro-2-5-phénylhydrazine conduit à un composé qui, après hydrolyse, libère uniquement du glucose (à l'exclusion d'arabinose) identifié par chromatographie. La liaison osidique intéresse l'atome de carbone 1 du glucose.

Le dosage de chlore sur le produit formé nous donne un pourcentage d'halogène égal à 14,96 % (théorie 15,04 %) correspondant à 1,98 atomes de chlore par molécule du composé ainsi synthétisé (calculé 2). Ce composé ne donnant naissance qu'à du glucose par hydrolyse, il est possible d'affirmer que l'atome de carbone 1 du glucose est engagé dans la liaison osidique. Le fait que ce composé fournit une hydrazone indique que l'atome de carbone 2 de l'arabinose ne porte pas de fonction hydroxylée et de ce fait, est engagé dans la liaison osidique. Ce composé est identifié au glucosido-(1 → 2)-arabinose.

Lactose.

La chromatographie sur colonne de cellulose a permis de séparer deux diholosides migrant en chromatographie sur papier comme le galactosido-(1 → 3)-arabinose et le galactosido-(1 → 2)-érythrose (préparé suivant WHISTLER et coll. et PERLIN et coll.).

a) Galactosido-(1 → 3)-arabinose.

Par hydrolyse sulfurique, le diholoside est scindé en galactose et arabinose. Le rapport moléculaire de l'hexose par rapport au pentose correspond à 0,98 (théorie 1).

L'action de la dichloro-2-5-phénylhydrazine conduit à une osazone contenant 22,29 % (calculé 22,57 %) ; ce pourcentage correspond à 3,95 atomes de chlore par molécule (théorie 4). Cette hydrazone ne libère par hydrolyse sulfurique que du galactose : la fonction réductrice de cet hexose est donc engagée dans la liaison osidique. De ce fait, cette fonction réductrice osidifiée ne peut réagir avec les dérivés de l'hydrazine.

Enfin, l'oxydation periodique conduit à la libération de 0,88 molécule de formaldéhyde (théorie 1) puisque les atomes de carbone 4 et 5 de l'arabinose sont chacun porteur d'un groupement hydroxyle. Le léger déficit en formaldéhyde est en accord avec les résultats donnés par COURTOIS et coll. (37).

Il est donc prouvé que la liaison intéresse l'atome de carbone 1 du galactose et l'atome de carbone 3 de l'arabinose (les atomes de carbone 1 et 2 sont libres puisque réagissant avec la dichloro-2-5-phénylhydrazine ; il en est de même des atomes de carbone 4 et 5 puisque l'acide periodique rompt cette liaison en fournissant du formaldéhyde). L'oxydation periodique nous a montré qu'une molécule de ce composé consomme 3,95 molécules d'acide periodique (théorie 4).

b) Galactosido-(1 → 2)-érythrose.

L'étude de ce diholoside a été effectuée suivant un schéma comparable à celui qui est exposé pour le galactosido-(1 → 3)-arabinose. L'hydrolyse sulfurique scinde ce diholoside en galactose et érythrose dans la proportion de 1,05 molécule de galactose pour 1 molécule d'érythrose (théorie : 1 molécule de galactose pour 1 molécule d'érythrose).

La dichloro-2-5-phénylhydrazine réagit sur ce diholoside en donnant l'hydrazone qui contient 15,82 % de chlore (théorie 16,07 %) : ce pourcentage correspond à 1,97 atome de chlore par molécule (théorie 2). Cette hydrazone libère par hydrolyse sulfurique du galactose à l'exclusion d'érythrose. L'atome de carbone 2 de l'érythrose ne porte donc pas de groupement hydroxyle sinon l'action de la dichloro-2-5-phénylhydrazine conduirait à l'osazone correspondante. Pour les raisons exposées plus haut, le galactose ne possède pas de fonction réductrice.

La liaison osidique réunit l'atome de carbone 1 du galactose et l'atome de carbone 2 de l'érythrose.

c) Conclusions.

Comme pour les diholosides précédents, le lactose s'oxyde par l'extrémité réductrice de la molécule avec formation de galactosido-(1 → 3)-arabinose, lequel s'oxyde ultérieurement en galactosido-(1 → 2)-érythrose. L'oxydation s'effectue ensuite sans doute préférentiellement sur les fonctions α -glycol de la molécule de galactose engagée dans la liaison

osidique, par rapport à la fonction glycol se trouvant à l'extrémité non réductrice de la chaîne de l'érythrose. En effet, il n'apparaît pas rapidement de formaldéhyde dans le milieu réactionnel comme l'ont montré les cinétiques d'oxydation effectuées dans la deuxième partie.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

L'étude de ces résultats démontre que l'acide periodique réagit d'une manière identique au tétracétate de plomb, c'est-à-dire qu'il attaque très préférentiellement les diholosides par leur extrémité réductrice avec formations d'oses à 11 et 10 atomes de carbone. La liaison osidique n'est pas rompue.

Dans ces conditions, si cette liaison intéresse l'atome de carbone N dans le diholoside initial, il se forme dans un premier stade un diholoside possédant un atome de carbone de moins que le précédent et dont la liaison osidique intéresse toujours le même atome de carbone, c'est-à-dire l'atome de carbone N-1 dans le nouveau diholoside.

Dans le cas du tétracétate de plomb, l'action oxydante tend à s'arrêter lorsque 2 molécules de tétracétate de plomb sont consommées : il est alors possible d'obtenir presque sélectivement un diholoside à 10 atomes de carbone ; il ne semble pas que l'oxydation periodique présente ce caractère de sélectivité ; au contraire, aussitôt formé le composé est à nouveau dégradé par l'acide periodique pour donner l'homologue inférieur.

Ces faits peuvent s'expliquer de la manière suivante :

En considérant que la première attaque de l'acide periodique est la formation d'un composé cyclique et que cette formation est rapide, en admettant que la liaison aldéhyde-alcool secondaire est très préférentiellement oxydée lorsqu'elle se trouve dans un mélange où il existe d'autres fonctions oxydables (35, 54), et en admettant que la vitesse de passage d'un ose de sa forme linéaire à sa forme cyclique est relativement lente (3), il est légitime d'envisager le mécanisme suivant. Un diholoside, par exemple le galactosido-(1 $\rightarrow$ 4)-glucose, est oxydé sous sa forme cyclique en galactosido-(1 $\rightarrow$ 3)-arabinose ; dans ces conditions, aussitôt l'oxydation terminée, le galactosido-(1 $\rightarrow$ 3)-arabinose se trouve sous forme linéaire (c'est-à-dire sous forme aldéhydique) par son reste arabinose. La cyclisation de la partie arabinose étant plus lente que la vitesse d'attaque de l'acide periodique, ce réactif attaque très préférentiellement le groupement aldéhyde-alcool secondaire par rapport à tous les autres groupements se trouvant en solution. Cette hypothèse permet d'interpréter tous les résultats que nous avons enregistrés jusqu'ici.

QUATRIÈME PARTIE

**ISOLEMENT ET DÉTERMINATION
DE LA STRUCTURE
DE QUELQUES POLYALDÉHYDES OBTENUS PAR
OXYDATION DE DIHOLOSIDES RÉDUCTEURS
OU NON RÉDUCTEURS**

INTRODUCTION

L'étude des polyaldéhydes a été entreprise depuis longtemps. De nombreux auteurs ont proposé différentes structures possibles pour expliquer le fait que ces composés ne réduisent pas les métaux lourds et qu'en général, ils ne présentent pas de fonction aldéhyde libre.

Jusqu'à ces dernières années, aucun de ces polyaldéhydes n'avait été obtenu à l'état cristallisé à l'exception du dialdéhyde du méthyl-rhamnoside (51).

En 1953, HURD et coll. (62) constatent que les dialdéhydes qui résultent de l'action de l'acide periodique en excès sur les méthylpyranosides ne possèdent pas de fonction aldéhyde libre.

Ils proposent différentes formules possibles ; les unes, IV et V, supposent une hydratation et une cyclisation de la molécule qui présente une structure *p*-dioxanne (tabl. I).

A la suite de ces travaux, de nombreux auteurs ont, par divers procédés, tenté de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse. Dans tous les cas, les composés à étudier sont préparés par action d'acide periodique sur l'oligoside correspondant en solution aqueuse ; à partir de cette solution plus ou moins concentrée, certains dérivés des polyaldéhydes sont synthétisés.

Les méthodes d'analyse peuvent être classées en deux groupes.

D'une part, il est possible de transformer par addition de différents réactifs ces polyaldéhydes en produits aisément cristallisables. GOLDSTEIN et coll. (50, 51) préparent des dérivés méthylés en milieu chlorhydrique ; ils démontrent la formation d'hémiacétals cycliques (II, III).

Il est possible de préparer le monoformazan.

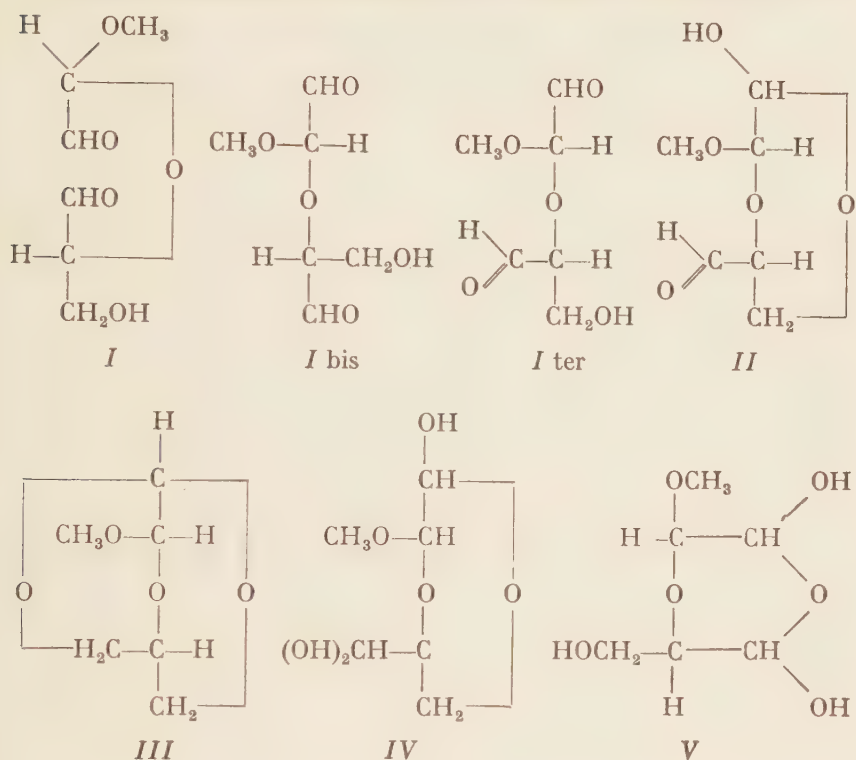
De ces phénomènes les auteurs déduisent que la deuxième fonction aldéhyde est combinée à la fonction alcool primaire pour donner un hémiacétal.

BAER et coll., en utilisant l'action cyclisante du nitrométhane, arrivent à des conclusions identiques avec les dialdéhydes des α -méthylpentopyranosides (11, 12) et de l' α -méthyl-D-glucopyranoside (13).

D'autre part, de nombreux autres travaux reposent sur la réduction des groupements aldéhydes par des moyens variés : réduction totale ou réduction sélective en polyalcools et étude de ces alcools. Cette réduction est obtenue par utilisation du borohydrure de sodium ou du nickel Raney.

TABLEAU I

Structures possibles du dialdéhyde de l' α -méthyl-D-glucopyranoside



Une autre série de travaux a été effectuée sur des composés dont la fonction alcool primaire est, soit remplacée par un radical méthyl (α -méthyl-D-rhamnopyranoside), soit bloquée par fixation d'un radical benzyldène plus ou moins substitué α - et β -4-6-ortho-benzyldène-D-glucoside (1, 49).

Tous les travaux effectués sur ces dérivés ne possédant plus de fonctions alcool primaire (ce qui élimine la possibilité de combinaison des fonctions aldéhydes avec la fonction alcool primaire existant dans le cas des méthylsides non substitués) admettent la formation d'un hémialdal (III) (tabl. I).

Récemment, JURADO SOLER (66) a repris l'étude des polyaldéhydes obtenus par oxydation périodique de quelques méthylpyranosides, diholosides réducteurs et non réducteurs ; en particulier il a étudié la structure des polyaldéhydes, des α - et β -méthylglucosides, du saccharose, du mélibiose et du lactose ; l'étude de ces composés cristallisés, par leur spectre infrarouge, leur spectre ultraviolet, la détermination de leur poids moléculaire, la détermination du nombre de fonctions aldéhyde

libres à l'aide du réactif de SCHIFF, lui a permis de donner une interprétation générale de la structure de ces différents composés.

L'oxydation par l'acide periodique des méthylsides et oligosides non réducteurs, donne naissance à des polyaldéhydes qui s'hydratent et se cyclisent pour donner des composés présentant une structure *p*-dioxanne (V). Il est néanmoins certain qu'il existe un équilibre entre plusieurs formes, mais cet équilibre en solution aqueuse est pratiquement totalement déplacé vers les composés à structure *p*-dioxanne.

Ainsi donc, on peut schématiser la structure d'un polyaldéhyde formé par oxydation d'un oside non réducteur contenant *N* molécules d'ose, comme l'enchaînement de *N* unités de dialdéhyde à structure *p*-dioxanne comprenant une molécule d'eau par molécule de dialdéhyde. Ces unités de dialdéhyde ont une structure cyclique comparable à celle du dialdéhyde de l' α -méthyl-D-glucopyranoside.

Les oligosides réducteurs réagissent vis-à-vis de l'acide periodique d'une manière différente des oligosides non réducteurs : deux mécanismes peuvent être envisagés suivant que l'acide periodique attaque la fraction réductrice ou non réductrice de la molécule. Les unités non réductrices dont l'atome de carbone 1 est engagé dans la liaison osidique, donnent naissance, comme dans le cas des oligosides non réducteurs, à un dialdéhyde qui s'hydrate et se cyclise ; la structure finale de cette unité est un cycle *p*-dioxanne (tabl. IV). L'unité réductrice au contraire, donne naissance à un reste possédant une ou deux fonctions aldéhydes suivant que la liaison osidique englobe ou non l'atome de carbone 6. Cette partie aldéhyde s'hydrate alors en donnant un composé plus ou moins labile en fonction de l'apparition plus ou moins facile de ponts d'hydrogène et de la disposition spatiale de ses fonctions aldéhydes.

TRAVAUX PERSONNELS

Techniques analytiques.

Nous oxydons les diholosides (laminaribiose, tréhalose) en solution 0,1 M par l'acide periodique libre 0,05 M en quantité telle que l'excès de celui-ci est égal à la moitié de la quantité nécessaire pour oxyder totalement le diholoside en polyaldéhyde ; la désionisation s'effectue par chromatographie sur résine échangeuse d'ions suivant la technique mise au point par JURADO SOLER (66). Ces composés cristallisés sont examinés dans des conditions identiques à celles décrites par ce même auteur.

Discussion des résultats.

Les résultats du dosage des fonctions aldéhydes libres par le réactif de SCHIFF sont consignés dans le tableau II.

TABLEAU II
Nombre de fonctions aldéhydes libres par molécule de polyaldéhyde

	Calculé	Trouvé
Tétraldéhyde du tréhalose	4	0,01
Tétraldéhyde du laminaribiose	4	0,04

Dans la première colonne est indiqué le nombre de fonctions aldéhydes libres par molécule de polyaldéhyde considéré sous forme linéaire sans hydratation, dans la deuxième colonne figure le nombre de fonctions aldéhydes réellement libres.

Ces résultats sont en accord avec ceux déjà mentionnés par JURADO SOLER (66) et permettent d'admettre qu'il n'existe pratiquement pas de fonction aldéhyde libre pour ces deux composés.

Les résultats de la détermination des poids moléculaires par cryoscopie sont consignés dans le tableau III.

TABLEAU III
Détermination des poids moléculaires

	Trouvé	Calculé	Molécules d'eau
Tétraldéhyde du tréhalose	317	314	2
Tétraldéhyde du laminaribiose	265	272	3

Il est évident que les poids moléculaires de ces composés cristallisés et séchés sous vide en présence d'anhydride phosphorique, augmentent en fonction du nombre de molécules d'eau entrant dans leur composition. Dans le tableau III sont consignés, d'une part les poids moléculaires calculés à partir du produit considéré sous forme d'hydrate, et d'autre part les poids moléculaires trouvés ; enfin, la dernière colonne indique le nombre de molécules d'eau correspondant à la structure envisagée. Ces résultats nous permettent de penser qu'aucun de ces polyaldéhydes ne présente de fonction aldéhyde libre et que celles-ci sont engagées, soit sous forme d'hémiacétal, soit sous forme d'hydrate.

a) Structure du tétraldéhyde du tréhalose.

Le tréhalose peut être considéré comme résultant de l'enchaînement de deux molécules de glucose sous forme pyranique, la liaison s'effectuant entre les deux atomes de carbone 1 de chacune des molécules de glucose.

Il est alors possible d'envisager que ce diholoside résulte du remplacement du groupement méthyle d'une molécule d' α -méthyl-D-glucopyranoside par une molécule de glucopyranose.

Le mécanisme d'oxydation d'un tel composé pour chacune des unités glucose est identique à celui qui avait été envisagé pour l' α -méthyl-D-glucopyranoside (66) : c'est-à-dire que dans un premier temps, l'acide periodique rompt les liaisons α -glycol de chacune des fractions en libérant deux fractions de dialdéhyde qui, aussitôt, se cyclisent suivant deux réactions possibles (tabl. IV).

α) Les deux fonctions aldéhydes de chacune des fractions s'hydratent avec deux molécules d'eau et ces hydrates réagissent entre eux avec élimination d'une molécule d'eau pour donner le composé final possédant deux cycles *p*-dioxanne (réaction 1).

β) Dans chacune des fractions glucose oxydées, une des fonctions aldéhydes réagit sur la fonction alcool primaire qui n'a pas été oxydée en donnant un hémiacétal à structure *p*-dioxanne (réaction 2) ; la fonction aldéhyde restée libre s'hydrate alors et une transposition fournit un composé dont la structure est identique (réaction 3) à celle qui a été obtenue par la réaction 1.

γ) Il est d'ailleurs possible d'envisager un cas intermédiaire où l'une des fonctions réagit suivant 1 et l'autre suivant 2-3.

L'examen comparatif des spectres infrarouges (effectués en pastille de bromure de potassium) du dialdéhyde de l' α -méthylglucoside et du tétraldéhyde du tréhalose, sont en accord avec cette interprétation. Ces spectres infrarouges ne présentent pour des fréquences comprises entre 1 750 et 2 750 cm^{-1} aucune différence. Pour les fréquences voisines de 1 700 cm^{-1} , il n'apparaît pratiquement aucune bande, ce qui démontre l'absence de fonction carbonyle libre.

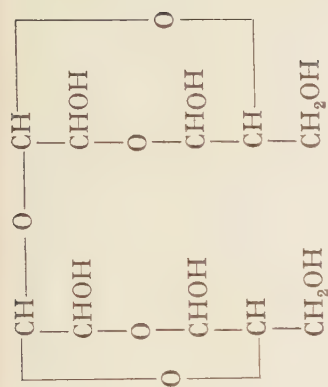
Le point de fusion du composé ainsi obtenu est égal à 178° C et son pouvoir rotatoire pour la raie D du sodium, à + 138°8.

b) Structure du tétraldéhyde du laminaribiose.

Le laminaribiose se compose d'une unité glucose dont l'atome de carbone 1 est engagé dans la liaison osidique et d'une seconde unité glucose liée à la précédente par son atome de carbone 3. L'unité non réductrice se comporte comme le méthyl-glucopyranoside, l'unité glucose dont l'atome de carbone 1 n'est pas engagé dans une liaison osidique s'oxyde comme si la chaîne était linéaire avec apparition de deux fonctions aldéhydes. Ces fonctions aldéhydes s'hydratent et le composé qui résulte est stable puisque les fonctions hydroxyles ainsi créées sont capables de former des ponts d'hydrogène. La fraction dialdéhyde provenant de la fraction réductrice a une structure de dialdéhyde malonique ; ainsi le dihydrate est stabilisé d'une part par la présence de l'atome d'oxygène lié à l'atome de carbone 2 et d'autre part par la formation facile de ponts d'hydrogène.

L'évaluation du poids moléculaire est en accord avec cette hypothèse puisqu'il montre que ce tétraldéhyde renferme trois molécules d'eau.

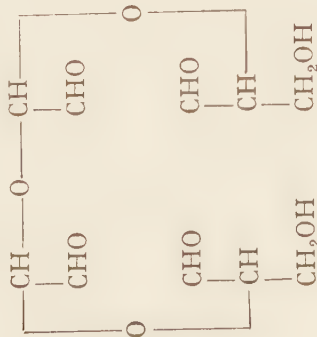
L'examen du spectre infrarouge montre son identité avec celui du tétraldéhyde du lactose. Le composé ainsi obtenu possède la même



$-2\text{H}_2\text{O}$

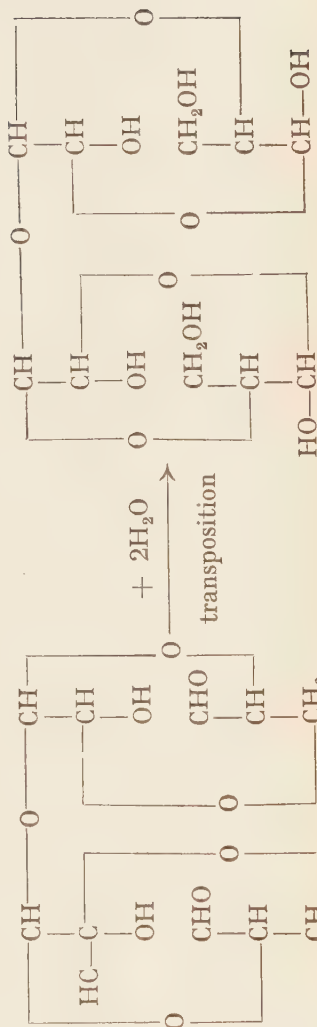
Réaction 1

$+ 4\text{H}_2\text{O}$



Hémiacétalisation

Réaction 2



$+ 2\text{H}_2\text{O}$
transposition

Réaction 3

structure que le tétraldéhyde obtenu à partir du lactose ; ces deux composés migrent d'une façon identique en chromatographie sur papier, leurs spectres infrarouges ne présentent pas de bande d'absorption pour les fréquences voisines de $1\,700\text{ cm}^{-1}$.

La comparaison entre le lactose et le laminaribiose met en évidence que l'unité non réductrice s'oxyde entre les atomes de carbone 2-3 et 3-4, faisant disparaître les sources d'assymétrie dues aux atomes de carbone 2, 3 et 4. Il en résulte la formation d'un cycle *p*-dioxanne ayant exactement la même conformation. Quant aux fractions réductrices, dans le cas du lactose, l'oxydation s'effectue d'une part entre les atomes de carbone 1, 2 et 3, avec formation de deux molécules d'acide formique, et d'autre part entre les atomes de carbone 5-6 avec libération d'une molécule de formaldéhyde ; dans le cas du laminaribiose au contraire, l'oxydation ne peut s'effectuer qu'entre les atomes de carbone 1-2 puis 4-5 et 5-6 avec libération respectivement de deux molécules d'acide formique et d'une molécule de formaldéhyde. Le bilan final de l'oxydation est la formation d'un chaînon du type aldéhyde malonique dont la conformation spatiale est identique à celle du chaînon homologue obtenu à partir du lactose. Les deux tétraldéhydes résultant possèdent donc des structures identiques.

CONCLUSIONS.

L'action de l'acide periodique sur ces deux osides permet d'attribuer aux tétraldéhydes qui en résultent, des structures conformes à celles qui ont été attribuées à leurs homologues par JURADO SOLER (66).

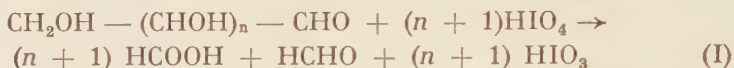
L'étude du spectre infrarouge, l'estimation du nombre de groupements aldéhydes libres et de leurs poids moléculaires, conduisent à leur assigner une structure cyclique résultant de l'hydratation des fonctions aldéhydes. L'absence de fonction aldéhyde libre est confirmée par le fait que les solutions aqueuses des polyaldéhydes ne présentent aucun maximum d'absorption dans l'ultraviolet.

CINQUIÈME PARTIE

**ÉTUDE DE L'ESTER FORMIQUE INTERMÉDIAIRE
OBTENU PAR OXYDATION MÉNAGÉE DU LACTOSE**

INTRODUCTION

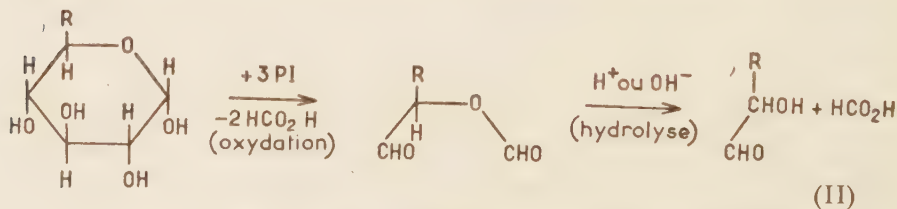
L'acide periodique réagit sur les oses en donnant naissance, entre autres composés, à de l'acide formique suivant la réaction globale :



Toutefois, la totalité de cet acide formique n'est pas titrable immédiatement par alcalimétrie au moyen de la soude. Il est nécessaire de laisser reposer la solution un certain temps après la fin de l'oxydation pour évaluer quantitativement cet acide (72 h environ à pH 1,8) (54).

SCHOPF et WILD (87), dans le cas de l'oxydation incomplète du glucose par trois molécules d'acide periodique constatent que sur les trois molécules d'acide formique qui prennent naissance, deux se trouvent à l'état libre tandis que la troisième est combinée sous forme d' α -O-formylglycéraldéhyde. Ce dernier composé est hydrolysé en libérant l'acide formique plus ou moins lentement suivant les conditions opératoires (réaction II, $\text{R} = \text{CH}_2\text{OH}$).

HUGHES et NEVELL (61), puis HOUGH et coll. (60) confirment qu'à pH 3,6 l'oxydation des aldohexoses qui réagissent pour 85 % sous forme pyranique se fait en deux temps : consommation de trois molécules d'acide periodique, puis ralentissement très notable de la réduction des deux autres molécules d'acide periodique. Ils constatent que les aldopentoses réagissent de façon analogue, à cette différence près que la deuxième phase de la réaction (consommation de la quatrième molécule d'acide periodique) est encore plus lente. Ils expliquent ce fait par l'hydrolyse beaucoup plus lente de l'ester formique de l'aldéhyde glycolique (réaction II, $\text{R} = \text{H}$) comparée à celle de l'ester formique de l'aldéhyde glycérique (en milieu acide) :



Ils classent différents groupements, du plus actif au moins actif :



De même, à partir du 3-méthyl-O-glucose et du 3-mésyl-O-glucose, BARKER et SMITH (14) obtiennent le dérivé du pentose correspondant estérifié en 4 par l'acide formique.

Dans le cas de l'oxydation des polysaccharides, et en particulier de l'amidon, la propriété des esters formiques prenant naissance à partir des chaînons réducteurs, de ralentir la vitesse de réaction avec l'acide periodique avait été notée depuis longtemps. Cette action freinatrice est évidemment en relation avec le pH qui conditionne la stabilité de ces esters ; les différents auteurs situent le pH pour lequel la réaction est la plus lente entre 3,6 et 4,6 (1, 53, 56, 71, 72, 94). La stabilité des esters formiques semble dépendre à la fois du pH du milieu et de la configuration spatiale des substituants de la molécule.

TRAVAUX PERSONNELS

La particulière stabilité de ces esters formiques avait déjà été notée lors de l'étude cinétique des différents diholosides réducteurs puisque l'acide formique ne se révélait titrable pour de faibles doses d'acide periodique qu'après hydrolyse du milieu réactionnel en milieu sulfurique 0,05 N ou chauffage en ampoules scellées pendant 20 heures à 50°. Ces remarques sont illustrées par le tableau I qui indique le nombre de molécules d'acide formique titrable avant et après hydrolyse à des concentrations diverses et pour différents pH lors d'oxydations ménagées du lactose.

TABLEAU I

Dosage de l'acide formique libéré lors de l'oxydation du lactose par de faibles doses d'acide periodique

Rapport moléculaire PI/lactose	pH du milieu	Durée du contact PI-lactose				Hydrolyse 20 heures		
						50° C		20° C
		4 jours	5 jours	8 jours	10 jours	Sans acide	H ₂ SO ₄	H ₂ SO ₄
0,10	2,15	0,51	0,64	0,77	0,81	0,85	0,83	0,80
0,25	1,80	0,74	0,81	0,86	0,87	0,87	0,89	0,84
0,50	1,65	0,82	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85
1,00	1,58	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81

Résultats exprimés en nombre de molécules d'acide formique par molécule d'acide periodique consommé.

Techniques analytiques.

Le lactose en solution 0.1 M est oxydé par une solution 0,1 N (0,05 M) d'acide periodique dans des proportions telles que le rapport moléculaire acide periodique/lactose soit égal à 0,10 ; la température étant maintenue à + 20° C, 10 minutes après le début de l'oxydation, l'acide formique libre est dosé par la soude 0,05 N en présence d'indicateur mixte (bleu de méthylène, rouge de méthyle). Ce moment est pris dans les opérations ultérieures comme origine des temps. A ce moment 0 des quantités aliquotes du mélange réactionnel sont acidifiées ou alcalinisées au moyen de quantités connues de H_2SO_4 N ou NaOH N. Le pH est mesuré électrométriquement. Après des temps de contact déterminés, une partie aliquote est prélevée dans chaque échantillon de pH connu et l'acidité développée est titrée par de la soude 0,05 N. En outre, le pH de la solution est vérifié et ajusté si nécessaire au pH de départ avec la soude 0,05 N, le volume du réactif ajouté étant soigneusement noté.

On détermine, d'autre part, au moment 0, après hydrolyse de 20 heures à + 50° C en présence d'acide sulfurique (concentration finale 0,05 N) la totalité de l'acide formique formé au cours de l'oxydation periodique.

Tous ces dosages sont pratiqués parallèlement sur un témoin dans lequel la solution de lactose est remplacée par de l'eau distillée et l'acide periodique réduit par un excès d'éthylène-glycol.

Un calcul simple, connaissant d'une part l'acide formique libre au temps 0, d'autre part l'acide formique total (libre et combiné) permet, compte tenu des dilutions, de connaître le pourcentage d'acide formique libéré, à des moments donnés, à partir de l'ester formique présent au temps 0.

Discussion des techniques analytiques.

Oxydation du lactose.

L'étude précédente de l'oxydation du lactose par de faibles quantités d'acide periodique nous a montré que dans nos conditions opératoires, la réaction d'oxydation donne naissance à 0,85 molécule d'acide formique pour une molécule d'acide periodique mise en jeu ; c'est-à-dire que 85 % de l'attaque se fait aux dépens d'une fonction aldéhyde. Ceci est d'ailleurs conforme aux conclusions tirées de l'étude de l'oxydation des aldohexoses (34, 54). Dans notre expérience, 85 % de l'acide periodique sont engagés dans la réaction suivante : (tabl. II).

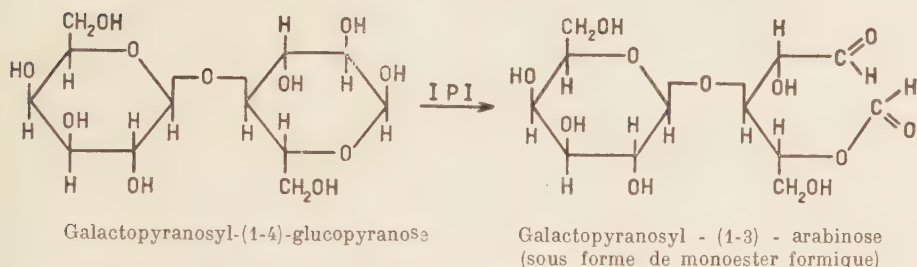
Comme 85 % de l'acide periodique réagissent de la sorte, au temps 0, compte tenu des dilutions et de la légère hydrolyse qui est intervenue pendant l'oxydation, la concentration initiale en ester formique est très peu différente de 0,007 M. La concentration en lactose non oxydé dans les mêmes conditions est très voisine de 0,075 M, celle de l'acide iodique de 0,004 M.

Dosage alcalimétrique de l'acide formique.

La totalité de l'acide periodique est bien réduite dans les conditions opératoires décrites puisque l'étude cinétique permet de conclure qu'à

TABLEAU II

Oxydation du lactose par 1 molécule d'acide periodique par molécule de diholoside



+ 20° C, après 6 minutes, le milieu réactionnel ne contient plus de quantité dosable d'acide periodique. D'autre part, l'examen des courbes de neutralisation de l'acide iodique et de l'acide formique par la soude 0,05 N (69) permet de situer la zone de virage utile, respectivement entre pH 4 et 9 et entre pH 5 et 8. C'est pourquoi nous utilisons l'indicateur mixte R.B. qui vire à pH 5,5.

Le dosage alcalimétrique de l'acide formique interdit l'usage de tampons. C'est pourquoi nous avons utilisé le protocole décrit précédemment qui permet de maintenir le pH donné dans des limites assez strictes (ceci est rendu possible par la faible concentration de l'ester qui n'est générateur que de quantités très limitées d'acide formique relativement peu ionisé). Cette absence de tampon élimine l'effet catalytique de celui-ci. DAWSON (40) a montré qu'un tampon acétate de sodium-acide acétique induit un abaissement notable du pH correspondant au maximum de stabilité de l'acétate d'éthyle, la présence d'acétate de sodium catalysant très notablement l'hydrolyse de ce composé.

Les variations du pH des solutions sont toujours restées entre les limites suivantes : pour les pH inférieurs à 2,50 : $\pm 0,02$; pour pH 3 : $\pm 0,08$; pour les pH supérieurs ou égaux à 3,50 : $\pm 0,10$.

Interprétation des résultats.

Pour les pH inférieurs à 4,5 le pourcentage de l'ester formique hydrolysé à un moment donné est d'autant plus faible que l'acidité du milieu décroît.

Le tableau III indique le pourcentage de l'ester hydrolysé en fonction du temps pour différents pH (1,45, 1,95, 2,15, 2,40, 3,0, 4,0, 5,0). Dans cette réaction, en appelant (*a*) la concentration initiale en ester et (*x*) la concentration en acide formique libre à un moment donné, $\log_{10} \frac{a}{a-x}$ est directement proportionnel à la vitesse d'hydrolyse.

TABLEAU III
Pourcentage d'hydrolyse de l'ester formique

Durée de l'hydrolyse		10 mn	30 mn	1 h	2 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h	10 h	12 h	14 h	20 j	22 j	27 j	32 h	56 h
pH 1,45		3,5	5	9	19	36	43,5	47,5	54	59	66,5	73	78	92	96	100		

Durée de l'hydrolyse		1 h	3 h	18 h	1 j	2 j	3 j	4 j	5 j	6 j	8 j	10 j	12 j	14 j	16 j	18 j	20 j	22 j	27 j	34 j
pH 1,95	7,5	44	49	57	81	93,5	98	100												
pH 2,15	7,5	41,5	29,5	37	61,5	74	87	92,5	93,5	98	100									
pH 2,40	7,5	41,5	25,5	31	46	60	69	75,5	82	89,5	95	98	100							
pH 3	6,5	10	15	18	27	35	42	49	54	63	72	78	85	87	90	95				
pH 3,5	5			9	13	16,5	20,5	23	28	32,5	41	46	51	55	59	63	66,5	74	79,5	
pH 4				5	6,5	13	18	23	28	33	34,5	42,5	47,5	51	55	64	73			
pH 5				5	6,5	14	20,5	27	30,5	36	41	46	50	55	57,5	66,5	75,5			

Sur le tableau IV figurent les familles de courbes représentatives de la fonction $10^2 \log_{10} \frac{a}{a-x} = f(t)$.

Pour chaque pH ces courbes sont sensiblement droites, ce qui traduit le fait que cette réaction bimoléculaire d'hydrolyse est du premier ordre par rapport à l'ester. Le coefficient angulaire étant directement fonction de la vitesse de cette réaction, on peut prédire que celle-ci passe par un minimum situé entre pH 4 et 5.

La constante de vitesse

$$K = \frac{1}{t \text{ (mn)}} \log_e \frac{a}{a-x} = \frac{2,303}{t} \log_{10} \frac{a}{a-x}$$

décroît rapidement pour les faibles pH, puis les variations deviennent très faibles au voisinage de pH 4. Entre pH 4 et 5 les variations sont du même ordre de grandeur que les erreurs expérimentales (tabl. V).

TABLEAU IV

Variations de la fonction $10^2 \log \frac{a}{a-x}$ pour différentes valeurs du pH

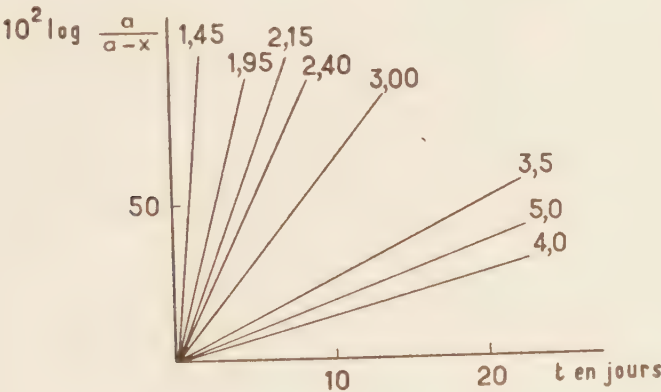


TABLEAU V

Valeur de la constante de vitesse pour différents pH

pH	1,45	1,95	2,15	2,40	3,00	3,50	4,00	5,00
K 10 ⁵ min ⁻¹	100	60	33	21	9	3,5	2,4	2,6

La courbe (tabl. VI) de la variation de K en fonction du pH traduit ce minimum. Cette courbe représentative qui est symétrique par rapport

à la valeur du pH correspondant à la vitesse minimale de réaction, permet de fixer celle-ci à une valeur très voisine de 4,50 (41).

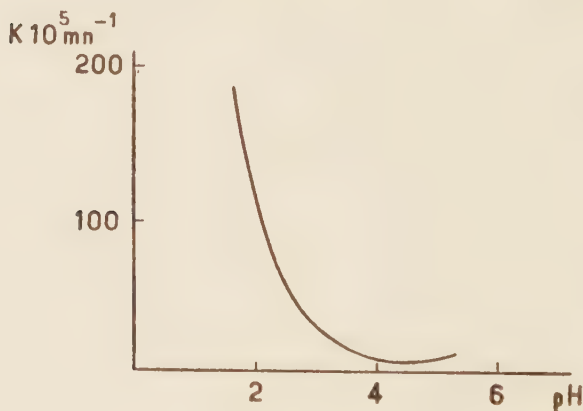
Mais les variations que traduit l'aspect de la courbe au voisinage du minimum ne permettent pas de situer très exactement cette valeur du pH entre 4,25 et 4,75.

Comme de nombreux auteurs l'ont déjà constaté (29), l'effet catalytique des ions OH^- est plus intense que celui des ions H^+ [cas de l'acétate d'éthyle dont l'hydrolyse minimale se situe à pH 5,1 (41)]. Pour le formiate d'éthyle ce pH est égal à 4,65 (19) ; il est voisin du pH correspondant au minimum d'hydrolyse de l'ester formique considéré.

Cette légère baisse du pH peut d'ailleurs s'expliquer par la présence de nombreux groupements électrophiles sur la molécule de l'ester étudié [HOUGH et coll. (60)]. Le groupement éthyle du formiate d'éthyle ne possède pas de groupement OH alors que ceux-ci sont nombreux dans la molécule de galactosido-arabinose.

TABLEAU VI

Variation de la constante de vitesse en fonction du pH



Dans leur article général CHERBULIEZ et LEBER (29) donnent une interprétation générale de l'hydrolyse des esters d'acide carboxylique. La catalyse est induite par les ions H^+ et OH^- et « l'hydrolyse implique la formation de complexes transitoires dans lesquels le carbone carboxylique, non oxydé coordinativement, devient tétracoordiné par trois atomes d'oxygène (substitués ou non) et par un reste hydrocarboné ».

Ces résultats démontrent la stabilité de l'ester formique du galactosido-(1 → 3)-arabinose, pour des pH compris entre 4,25 et 4,75. Cet ester formique intéresse l'atome de carbone 4 de la fraction arabinose ; dans ces conditions, la liaison entre les atomes de carbone 4 et 5 n'est plus oxydable, alors qu'au contraire pour des valeurs très différentes du pH (en particulier en milieu acide) cet ester formique est très labile et

TABLEAU VII

Oxydation du lactose à différents pH

Temps (en heures)	5	6	7	8	9	10	12	14	16	20	25	30	35
pH 4,00	4,60	4,75	4,86	4,93	5,00								
pH 4,25		4,12	4,22	4,31	4,35	4,40	4,46	4,52	4,57	4,67	4,80		
pH 4,37	3,28	3,43	3,58	3,73	3,79	3,89	4,00	4,14	4,20	4,25	4,32	4,40	4,50
pH 4,50	3,32	3,47	3,62	3,77	3,87	3,97	4,12	4,28	4,30	4,40	4,50	4,52	4,60
pH 4,67	3,32	3,47	3,62	3,78	3,92	4,02	4,22	4,36	4,45	4,50	4,52	4,55	4,63
pH 4,75		3,62	3,87	4,00	4,12	4,20	4,37	4,42	4,50	4,54	4,57		
pH 5,50	4,80	5,00	5,10										

Les résultats sont exprimés en molécules d'acide périodique réduit par molécule de lactose.

se trouve rapidement détruit avec régénération de la fonction alcool secondaire portée par l'atome de carbone 4 : la liaison 4-5 devient alors facilement oxydable.

Dans ces conditions, suivant le pH du milieu réactionnel, il doit être possible de stabiliser l'ester formique et, de ce fait, d'empêcher cette oxydation entre les atomes de carbone 4 et 5 de la molécule d'arabinose du galactosido-arabinose intermédiaire. Aux pH correspondants au maximum de stabilité de l'ester formique, le lactose ne doit plus, dans un premier temps, consommer 5 molécules d'acide periodique, mais seulement 4 molécules.

Ce raisonnement nous a donc conduit à étudier l'oxydation du lactose en présence d'acide periodique libre d'une part, et d'autre part, en présence de tampons dont les pH varient entre 4 et 5.

Nous utilisons une solution de lactose 0,05 M dans un tampon acétique-acétate de sodium 0,02 M. La solution d'acide periodique 0,025 M, utilisée dans cette réaction, est tamponnée à l'aide d'un tampon identique.

L'oxydation s'effectue à l'obscurité entre 0° et + 2° C ; l'acide periodique consommé est dosé après des temps de contact déterminés.

Les résultats sont consignés dans le tableau VII. Ils montrent que pour un pH égal à 4,37 apparaît un très net ralentissement de l'oxydation après consommation d'environ 4 molécules d'acide periodique par molécule de lactose. Pour des pH différents ce palier n'est atteint que pour des quantités d'acide periodique égales à 5 molécules par molécule de diholoside.

Conclusions.

Ces études permettent d'affirmer que l'ester formique intermédiaire qui apparaît lors de l'oxydation du lactose, présente un maximum de stabilité pour un pH très voisin de 4,40. L'utilisation systématique de tampons dans le but de réaliser les oxydations dans un milieu préservant au maximum la stabilité de cet ester formique, montre qu'il est possible de modifier le cours normal de l'oxydation periodique du lactose. Dans ces conditions, le diholoside consomme rapidement, non plus 5 molécules d'oxydant, mais 4 molécules.

Cette technique semble laisser la voie ouverte à la possibilité de modifier le cours habituel des oxydations periodiques de certains composés osidiques par contrôle strict du pH du milieu réactionnel. Dans le cas du lactose par exemple, les résultats rendent tout à fait légitime l'hypothèse qu'à pH 4,40 ce diholoside réagit suivant le schéma figurant dans le tableau VIII.

Le lactose donnerait naissance à un composé constitué d'un cycle *p*-dioxanne lié à une molécule d'érythrose dont la structure spatiale reste à déterminer.

DISCUSSION GÉNÉRALE DES RÉSULTATS

Les techniques originales mises au point pour la détermination de la structure des diholosides intermédiaires formés lors de l'oxydation partielle par l'acide periodique en milieu acide de quelques galactosido-glucoses et glucosido-glucoses, permettent de réduire la grandeur des prises d'essai à l'échelle du milligramme.

C'est ainsi que le microdosage colorimétrique de l'acide periodique ne requiert l'utilisation que de quantités d'oses voisines du milligramme ou de la fraction de milligramme.

La technique de microdosage du formaldéhyde évitant la distillation de ce composé, permet d'opérer sur des produits d'oxydation utilisant des concentrations voisines.

Il reste à trouver pour compléter ces microtechniques, le moyen de doser l'acide formique à des concentrations de l'ordre de la centaine de microgrammes ; malheureusement, jusqu'ici toutes les tentatives ont échoué.

Il n'en reste pas moins que ces protocoles analytiques appliqués à l'oxydation des osazones chlorées des glucides peuvent apporter une solution à différents problèmes relatifs à leur structure.

La préparation des osazones chlorées présente un avantage certain sur celle des osazones ou des dinitro-2-4-phénylosazones pour de multiples raisons :

Les osazones offrent souvent des difficultés dans leur purification et sont parfois, si l'on opère sur de très faibles quantités, difficiles à cristalliser. D'autre part, le dosage de l'azote dans de tels composés, compte tenu du fait que les atomes d'azote entrant dans leur constitution sont voisins, est très difficile en appliquant la méthode de KJEDAHN.

Si la première remarque ne s'applique que partiellement au cas des dérivés nitrés, en revanche le deuxième inconvénient relatif au dosage de l'azote est encore plus prononcé ; il est nécessaire au préalable, de réduire par un mélange d'acide iodhydrique et de phosphore avant de procéder à la minéralisation ; même après ce traitement, les dosages

sont souvent nettement déficitaires. Seule la méthode de DUMAS est applicable, mais nécessite un appareillage particulier.

L'utilisation de la dichloro-2-5-phénylhydrazine, outre son manie- ment facile du fait de son excellente solubilité en milieu assez fortement acétique, du fait de la séparation aisée de son dérivé acétylé par chromatographie sur alumine et enfin, du fait de la bonne cristallisation de ses dérivés osidiques, permet d'obtenir des composés dont les caractéristiques se prêtent aux dosages ultérieurs dans une pureté satisfaisante.

Sachant qu'il existe deux atomes de chlore sur chaque cycle benzénique, il est particulièrement avantageux de remplacer le dosage d'azote par celui du chlore. Les renseignements fournis sont aussi facilement interprétables. Sa réalisation, soit par combustion en atmosphère d'oxygène suivant la méthode de SCHÖNIGER, soit par destruction par le peroxyde de sodium dans une microbombe du type WURZSCHMITT ou PARR, est très rapide et extrêmement simple ; la prise d'essai peut être très réduite puisque le dosage ultérieur par potentiographie ne requiert, sans manipulation particulière et avec une excellente précision, que des quantités de l'ordre de 200 μ g. Ainsi, pour les diholosides étudiés, dont les osazones ou les hydrazones contiennent des proportions de chlore voisines de 15 à 20 %, il suffit d'une prise d'essai de l'ordre du milligramme.

D'autre part, ces composés relativement solubles dans l'alcool éthylique à 60 % peuvent être soumis à l'oxydation par l'acide periodique et le dosage du formaldéhyde libéré permet de déterminer le nombre de groupements alcool primaire lié à une fonction alcool secondaire.

L'hydrolyse par l'acide sulfurique 0,5 N en milieu alcoolique à 50 % rompt les liaisons osidiques en laissant intacte la partie de la molécule engagée sous forme d'osazone ou d'hydrazone. Dans ces conditions, une chromatographie ultérieure sur papier permet d'identifier les oses dont la fonction réductrice était engagée dans les liaisons osidiques.

Ainsi, cette méthode originale permet, sur des quantités de l'ordre de quelques milligrammes, de déterminer la quantité d'acide periodique consommée par molécule de glucide, et par là même, la quantité de formaldéhyde libérée lors de cette oxydation. Ce premier stade permet de déterminer l'aspect global de la molécule. L'action de la dichloro-2-5-phénylhydrazine et le dosage du chlore sur le composé ainsi formé, en relation avec l'étude des produits d'hydrolyse sulfurique et le résultat de l'oxydation periodique, fournissent de précieux renseignements sur la nature des oses engagés dans la liaison osidique.

La comparaison de tous ces résultats permet de localiser l'emplacement où est branchée la liaison osidique sur la chaîne carbonée possédant la fonction réductrice libre.

Ces différentes techniques ont permis d'envisager l'oxydation des diholosides par l'acide periodique sous un nouvel aspect. Jusqu'à ces derniers temps, l'acide periodique n'était utilisé pour ses propriétés oxydantes que pour la dégradation des oses jusqu'au stade ultime ; le plus souvent les stades intermédiaires étaient à peu près méconnus.

En revanche, l'emploi du tétracétate de plomb dont le mode d'action

est considéré comme très voisin de celui de l'acide periodique a fait l'objet dans les dix dernières années, d'études relativement poussées quant à son mécanisme d'action. Cet oxydant qui présente l'inconvénient par rapport à l'acide periodique, de nécessiter un milieu acétique, voit son emploi limité aux osides de faible poids moléculaire, du fait de la médiocre solubilité des composés à longue chaîne dans un tel solvant.

L'action du tétracétate de plomb sur les diholosides réducteurs s'effectue en plusieurs stades ; dans un premier temps, un diholoside, tel que le lactose, consomme rapidement deux molécules de tétracétate de plomb pour donner le galactosido-(1 $\rightarrow$ 2)-érythrose ; ce fait s'explique par la particulière stabilité de l'ester formique intermédiaire formé, qui, en milieu anhydre, a peu tendance à s'hydrolyser. Ceci explique la raison pour laquelle le tétracétate de plomb a toujours été considéré comme un oxydant plus sélectif que l'acide periodique.

Il est bien évident que l'étude précédente a montré que le mode d'action de l'acide periodique, lorsqu'il était en quantité inférieure à celle qui est normalement consommée par le réducteur envisagé dans les conditions habituelles, présente un mode de dégradation des diholosides superposable à celui du tétracétate de plomb. Néanmoins, les différents stades mis en évidence sont moins nets et il est très difficile, sinon impossible, d'obtenir avec un bon rendement (comme c'est le cas avec le tétracétate de plomb), un diholoside tel que le galactosido-(1 $\rightarrow$ 2)-érythrose. Les réactions parasites sur l'unité non réductrice du diholoside, compte tenu de la disposition spatiale des hydroxyles de cette unité, sont toujours beaucoup plus importantes qu'avec le tétracétate de plomb. D'autre part, le milieu aqueux avec son pH relativement bas dans le cas d'oxydations periodiques courantes, est très défavorable à la stabilité de l'ester formique intermédiaire ; celui-ci est hydrolysé aussitôt formé et de ce fait l'inhibition de l'oxydation ultérieure qui apparaissait avec le tétracétate de plomb, disparaît dans ces conditions opératoires.

On peut donc penser que, par augmentation du pH du milieu réactionnel au moyen d'un tampon convenable, il est possible d'augmenter la sélectivité de l'acide periodique et de la rapprocher de celle du tétracétate de plomb. Dans ces conditions et bien que la sélectivité de l'acide periodique reste moindre que celle du tétracétate de plomb, ce réactif présente l'avantage très net de ne nécessiter qu'un milieu aqueux dans lequel les composés sont largement solubles, alors que le champ d'action du tétracétate de plomb est limité par la nature du solvant dans lequel il est nécessaire de le mettre en réaction.

Les résultats de cette étude permettent d'envisager favorablement l'utilisation de l'acide periodique en quantités ménagées pour la détermination de la structure des chaînes latérales réductrices des polyosides ; ainsi un polyoside à chaînes latérales glucose donnerait dans nos conditions opératoires d'oxydation ménagée, après hydrolyse, de l'arabinose et de l'érythrose ; en cas de chaîne latérale réductrice formée de galactose, il serait possible de mettre en évidence, après oxydation et hydrolyse, dans les milieux réactionnels, du lyxose ou du thréose. Si la liaison osidique intéresse l'atome de carbone 2 de la chaîne réductrice, il n'apparaît

aucun de ces composés. Si cette liaison s'effectue par l'intermédiaire de l'atome de carbone 3, il n'apparaît que le pentose et, au cas où l'atome de carbone 4 est intéressé par cette liaison, le tétrose peut être mis en évidence.

Mais il semble, dans l'état actuel de ce problème, impossible d'effectuer des déterminations quantitatives en raison de la sélectivité encore insuffisante de nos techniques d'oxydation. Peut-être l'utilisation de milieux strictement tamponnés permettra-t-elle d'améliorer les techniques mises au point.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

En entreprenant ce travail, nous nous sommes proposés d'étudier l'oxydation periodique ménagée de quelques diholosides réducteurs. Ce travail se divise en quatre parties :

La première partie est relative aux techniques générales de préparation des différents oligosides étudiés. Nous exposons ensuite les principales techniques qualitatives et quantitatives permettant d'une part, de caractériser les composés formés au cours des oxydations periodiques, et, d'autre part, d'effectuer leurs dosages. Ces différentes méthodes, maintenant classiques, sont très brièvement décrites.

Nous exposons alors en détail une technique personnelle de microdosage colorimétrique de l'acide periodique. Cette réaction utilise la coloration jaune orangé que fournit l'acide periodique en milieu convenablement tamponné avec l'O-dianisidine. Le développement de cette réaction est régulier et la coloration est stabilisée par l'utilisation d'un tampon barbital sodique/acide acétique additionné de propanol et de butanol en quantités strictement calculées. L'étude systématique des différents paramètres qui régissent cette réaction nous a conduits à proposer un protocole opératoire original. Cette technique permet de doser de 0,1 à 1 μ M d'acide periodique en présence de quantités d'acide iodique inférieures à 75 μ M. Les différents osides, les acides et aldéhydes de faible poids moléculaire apparaissant généralement lors de l'action de l'acide periodique sur les hydrates de carbone n'interfèrent pas dans ce dosage.

Nous avons montré que la coloration est due à la formation exclusive de *bis*-(3-3'-diméthoxy-4-amino)-azobiphényle. Ce composé a été préparé à l'état cristallisé.

Ensuite, nous avons été amenés à modifier la technique de dosage du formaldéhyde, utilisant la réaction de SCHRYVER. Nous proposons un mode d'élimination particulier de l'acide iodique et de l'acide periodique en vue du dosage de cet aldéhyde dans des milieux riches en dérivés oxygénés de l'iode. Cette élimination repose sur les propriétés réductrices de l'azothydrate de sodium vis-à-vis de l'iode libre en présence de traces de dérivés soufrés.

Les acides iodique et periodique en milieu acétique et en présence d'un excès d'iodure de potassium sont réduits à l'état d'iode libre ; cet

iode libre est réduit par l'azothydrate de sodium en excès en présence d'une petite quantité de chlorhydrate de cystéine.

En réalité, toutes ces opérations s'effectuent en un seul temps par addition d'un réactif unique.

Les iodures ainsi formés sont éliminés par addition d'un excès de nitrate d'argent et l'excès d'ions Ag^+ n'ayant pas réagi est précipité sous forme d'azothydrate d'argent ; ici encore ces deux opérations s'effectuent en un seul temps. En effet, les halogénures d'argent sont beaucoup plus insolubles que l'azothydrate d'argent ; ces halogénures se forment donc préférentiellement à l'azothydrate d'argent qui ne peut alors précipiter qu'aux dépens des ions Ag^+ n'ayant pas été précipités à l'état d'halogénures. Après filtration, le dosage du formaldéhyde est réalisé par la méthode de SCHRYVER, modifiée par HOUGH et coll. L'étude systématique de cette réaction d'élimination des acides iodique et periodique est exposée.

La deuxième partie est consacrée à une étude cinétique de l'oxydation de nombreux méthylsides, diholosides réducteurs et non réducteurs.

Dans un premier temps, ces différents osides sont oxydés par de faibles quantités d'acide periodique, inférieures aux quantités nécessaires pour dégrader totalement ces composés. Après des temps de contact variables, la quantité d'acide periodique consommée est dosée.

Dans un deuxième temps, quelques diholosides réducteurs sont oxydés dans les mêmes conditions et les quantités d'acide formique et de formaldéhyde libérés sont évaluées.

Cette étude montre tout d'abord que la présence d'une fonction réductrice contiguë à une fonction alcool secondaire, entraîne une particulière sensibilité des composés présentant cette structure, vis-à-vis de l'acide periodique : l'attaque débute par l'extrémité réductrice de la molécule.

Pour les osides non réducteurs, cette attaque initiale s'effectue très préférentiellement sur les groupements cis-glycol, contrairement à ce qui a lieu dans le cas des polyols linéaires. Néanmoins, tous ces groupements cis-glycol n'ont pas la même affinité pour former le complexe intermédiaire acide periodique-glycol, premier stade d'une oxydation periodique.

La présence de substituants sur les carbones contigus à ces groupements cis-glycol influe sur la vitesse d'attaque et la ralentit d'autant plus que ces substituants sont porteurs de groupements polaires ; l'encombrement stérique joue aussi un rôle important. C'est ainsi qu'un groupement aldéhyde primaire porté par un carbone contigu à une fonction cis-glycol, possède un pouvoir inhibiteur sur cette affinité vis-à-vis de l'acide periodique plus important que celui d'un groupement méthoxy.

Cette influence de groupements polaires sur le ralentissement de la vitesse d'attaque se manifeste également vis-à-vis des liaisons supportant une fonction aldéhyde et une fonction alcool secondaire. Ainsi la présence de la liaison osidique ralentit la vitesse de formation du complexe, d'autant

plus que celle-ci est plus rapprochée de la liaison considérée : un diholoside ($1 \rightarrow 6$) s'oxyde plus facilement qu'un diholoside ($1 \rightarrow 3$).

Il est donc possible de classer les différentes liaisons par affinité croissante pour l'acide periodique : groupement trans-glycol, groupement alcool primaire-alcool secondaire, groupement cis-glycol, groupement aldéhyde-alcool secondaire.

La troisième partie est consacrée à l'identification des produits d'oxydation de différents diholosides réducteurs.

Les diholosides réducteurs s'oxydent préférentiellement par la fraction réductrice de la molécule, c'est-à-dire que le mélibiose (galactosido- $(1 \rightarrow 6)$ -glucose) s'oxyde suivant la séquence de réaction : galactosido- $(1 \rightarrow 6)$ -glucose, galactosido- $(1 \rightarrow 5)$ -arabinose, galactosido- $(1 \rightarrow 4)$ -érythrose, galactosido- $(1 \rightarrow 3)$ -glycéraldéhyde, galactosido- $(1 \rightarrow 2)$ -glycolaldéhyde. Ces composés ont été transformés en osazones chlorées correspondantes et identifiés.

De même, les diholosides ($1 \rightarrow 4$) s'oxydent suivant un schéma voisin et les premiers stades d'attaque fournissent, dans le cas du lactose, du galactosido- $(1 \rightarrow 3)$ -arabinose, puis du galactosido- $(1 \rightarrow 2)$ -érythrose ; parallèlement le maltose fournit du glucosido- $(1 \rightarrow 3)$ -arabinose et du glucosido- $(1 \rightarrow 2)$ -érythrose ; ces composés ont été isolés et identifiés par formation des osazones chlorées.

Le laminaribiose donne naissance au glucosido- $(1 \rightarrow 2)$ -arabinose.

L'attaque ultérieure des diholosides $1 \rightarrow 2$ résultant de ces dégradations s'effectue suivant les règles qui ont été définies pour les osides non réducteurs.

Dans tous ces composés, la fonction aldéhyde est contiguë à l'atome de carbone supportant la liaison osidique ; l'acide periodique ne peut donc plus attaquer la fonction réductrice. Il en résulte que ces composés, bien que réducteurs, se comportent, vis-à-vis de l'acide periodique, comme les osides non réducteurs ; le sophorose (glucosido- $(1 \rightarrow 2)$ -glucose) réagit vis-à-vis de l'acide periodique comme s'il ne possédait pas de fonction réductrice.

Dans la quatrième partie, nous étudions les produits d'oxydation du tréhalose et du laminaribiose obtenus par action d'un excès d'acide periodique. Il apparaît des polyaldéhydes qui ont été obtenus à l'état cristallisé.

Le polyaldéhyde obtenu à partir du laminaribiose est identique à celui qui a été préparé à partir du lactose et du maltose.

Le tétraldéhyde provenant de l'oxydation du tréhalose (glucosido- $(1 \rightarrow 1)$ -glucose) possède deux cycles *p*-dioxanne : cette structure est en accord avec les résultats obtenus par JURADO SOLER.

Dans la cinquième partie, nous étudions la stabilité de l'ester formique intermédiaire résultant de l'oxydation du lactose par de faibles quantités d'acide periodique.

Dans un premier temps, le lactose s'oxyde avec formation de galactosido- $(1 \rightarrow 3)$ -arabinose dont la fonction alcool secondaire fixée sur l'atome de carbone 4 de la molécule d'arabinose est estérifiée par une molécule d'acide formique. Cet ester formique possède son maximum de

stabilité pour les pH voisins de 4,37 ; dans ces conditions, son hydrolyse est extrêmement lente.

Ce composé peut s'oxyder facilement en donnant du galactosido-(1 → 2)-érythrose dont la fonction alcool fixée sur l'atome de carbone 3 de la molécule d'érythrose reste estérifiée. A pH 4,37, l'oxydation ultérieure entre les atomes de carbone 3 et 4 de cette molécule d'érythrose est conditionnée par la vitesse d'hydrolyse de cet ester.

Ainsi donc, l'étude cinétique de l'oxydation du lactose par l'acide periodique dans des milieux réactionnels tamponnés au voisinage de pH 4,37, montre qu'il y a consommation rapide de quatre molécules d'acide periodique, la cinquième molécule normalement consommée en milieu acide n'est réduite que très lentement : dans ces conditions, il est possible de proposer comme schéma de l'oxydation du lactose en milieu acide, la chaîne de réactions suivante : galactopyranosyl-(1 → 4)-glucose → monoester formique du galactopyranosyl-(1 → 3)-arabinose → galactopyranosyl-(1 → 3)-arabinose → galactopyranosyl-(1 → 2)-érythrose → tétraldéhyde.

Au contraire, à pH 4,37 il est possible d'envisager la chaîne de réaction suivante : galactopyranosyl-(1 → 4)-glucose → monoester formique du galactopyranosyl-(1 → 3)-arabinose → monoester formique du galactopyranosyl-(1 → 2)-érythrose ; ensuite, la fraction galactopyranosyl s'oxyde pour donner un cycle *p*-dioxanne restant lié à la molécule d'érythrose par l'atome de carbone 2 de celui-ci ; la fonction alcool secondaire située sur l'atome de carbone 3 est estérifiée par un reste formique. La formation ultérieure de tétraldéhyde est conditionnée par la vitesse d'hydrolyse de l'ester formique du composé précédemment envisagé.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) ABDEL-AKHER (M.) et SMITH (F.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1959, **81**, 1718.
- (2) AEBI (H.), TEMPERLI (A.), GRESSLY (R.), OESTREICHER (R.) et ZUPPINGER (A.). — *Helv. chim. Acta*, 1960, **43**, 1714.
- (3) ANGYAL (S. J.) et KLAVINS (J. E.). — *Australian J. Chem.*, 1961, **14**, 577.
- (4) ARIEL (M.) et MANKA (J.). — *Anal. chim. Acta*, 1961, **25**, 248.
- (5) ARTIGAS (J.), BUSCARONS (F.) et RODRIGUEZ-RODA (C.). — *Ann. Soc. esp. Fis. y Quim.*, 1961, **56B**, 377.
- (6) ARTIGAS (J.), BUSCARONS (F.) et RODRIGUEZ-RODA (C.). — *J. Soc. Cosmet. chem.*, 1961, **12**, 307.
- (7) ASKNES (G.) et SANDBERG (K.). — *Acta chem. scand.*, 1957, **11**, 876.
- (8) ASPINALL (G. O.) et FERRIER (R. J.). — *Chem. Ind.*, 1957, 1216.
- (9) AWE (W.) et NAUJOKS (E.). — *Mikrochemie ver Mikrochim. Acta*, 1951, **38**, 574.
- (10) BACHLI (P.) et PERCIVAL (E. G. V.). — *J. chem. Soc.*, 1952, 1243.
- (11) BAER (H. H.) et FISCHER (H. O. L.). — *Proc. natl Acad. Sci. U.S.*, 1958, **44**, 991.
- (12) BAER (H. H.) et FISCHER (H. O. L.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1959, **81**, 5184.
- (13) BAER (H. H.) et FISCHER (H. O. L.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1960, **82**, 3709.
- (14) BARKER (G. R.) et SMITH (D. C. C.). — *Chem. Ind.*, 1952, 1035.
- (15) BARRY (V. C.). — *Sci. Proc. Roy. Dublin Soc.*, 1941, **22**, 423.
- (16) BARTON (D. H. R.) et COOKSON (R. C.). — *Quart. Rev.*, 1956, **10**, 44.
- (17) BERKA (A.) et DOLEZAL (J.). — *Anal. chem. Acta*, 1961, **24**, 476.
- (18) BERKA (A.) et DOLEZAL (J.). — *Cong. Chim. anal. Budapest*, 1961, 80.
- (19) BOLIN (I.). — *Z. anorg. Chem.*, 1925, **143**, 201.
- (20) BRICKER (C. E.) et VAIL (W. A.). — *Anal. Chem.*, 1950, **22**, 720.
- (21) BUCHANAN (J. G.), DEKKER (G. A.) et LONG (A. G.). — *J. chem. Soc.*, 1950, 3162.
- (22) BUIST (G. J.) et BUNTON (C. A.). — *J. chem. Soc.*, 1954, 1406.
- (23) BUIST (G. J.), BUNTON (C. A.) et MILES (J. H.). — *J. chem. Soc.*, 1957, 4567.
- (24) BUIST (G. J.), BUNTON (C. A.) et MILES (J. H.). — *J. chem. Soc.*, 1957, 4575.
- (25) BULGRIN (V. C.). — *J. phys. Chem.*, 1957, **61**, 702.
- (26) BUSCARONS (F.), ARTIGAS (J.) et RODRIGUEZ-RODA (C.). — *Anal. chim. Acta*, 1960, **23**, 214 et 217.
- (27) BUSCARONS (F.), ARTIGAS (J.) et RODRIGUEZ-RODA (C.). — *Chim. anal.*, 1961, **43**, 228.

- (28) CHARLSON (A. J.) et PERLIN (A. S.). — *Canad. J. Chem.*, 1956, **34**, 1200.
- (29) CHERBULIEZ (E.) et LEBER (J. P.). — *Helv. chim. Acta*, 1952, **35**, 2589.
- (30) CIFONELLI (J. A.) et SMITH (F.). — *Anal. Chem.*, 1954, **26**, 1132.
- (31) CLANCY (M. J.). — *Methods in Carbohydrate Chem.* Academic Press, 1962, 345.
- (32) CLANCY (M. J.) et WHELAN (W. J.). — *Chem. Ind.*, 1959, 673.
- (33) COURTOIS (J. E.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1947, **29**, 248.
- (34) COURTOIS (J. E.) et GUERNET (M.). — *Bull. Soc. Chim.*, 1957, 1388.
- (35) COURTOIS (J. E.) et GUERNET (M.). — *Ann. pharm. Fr.*, 1958, **16**, 119.
- (36) COURTOIS (J. E.) et RAMET (M.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1947, **29**, 240.
- (37) COURTOIS (J. E.), WICKSTRÖM (A.) et LE DIZET (P.). — *Bull. Soc. Chim.* 1952, 1006.
- (38) COURTOIS (J. E.), WICKSTRÖM (A.) et LE DIZET (P.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1953, **35**, 1111.
- (39) GRIEGEE (R.), KRAFT (L.) et RANK (B.). — *Ann.*, 1953, **507**, 159.
- (40) DAWSON (H. M.). — *J. chem. Soc.*, 1927, **130**, 1146.
- (41) DAWSON (H. M.) et LOWSON (W.). — *J. chem. Soc.*, 1927, **130**, 2444.
- (42) DIENES (M. T.), HOCKETT (R. C.) et RAMSDEN (H. E.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1943, **65**, 1474.
- (43) FLEURY (P.) et COURTOIS (J. E.). — *Bull. Soc. chim.*, 1943, **10**, 245.
- (44) FLEURY (P.) et COURTOIS (J. E.). — *Bull. Soc. chim.*, 1945, **12**, 548.
- (45) FLEURY (P.), COURTOIS (J. E.) et BIEDER (A.). — *Bull. Soc. chim.*, 1952, 118.
- (46) FLEURY (P.) et LANGE (J.). — *J. Pharm. Chim.*, 1933, **17**, 107, 196, 313 et 409.
- (47) FLEURY (P.) et LE DIZET (M^{me} L.). — *Bull. Soc. chim.*, 1961, 359.
- (48) GARNER (E. F.), GOLDSTEIN (I. J.), MONTGOMERY (R.) et SMITH (F.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1958, **80**, 1206.
- (49) GOLDSTEIN (I. J.), LEWIS (B. A.) et SMITH (F.). — *Chem. Ind.*, 1958, 595.
- (50) GOLDSTEIN (I. J.) et SMITH (F.). — *Chem. Ind.*, 1958, 40.
- (51) GOLDSTEIN (I. J.) et SMITH (F.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1960, **82**, 3421.
- (52) GORIN (P. A. J.). — *Canad. J. Chem.*, 1960, **38**, 641.
- (53) GOTTLIEB (D.), CALDWELL (C. G.) et HIXON (R. M.). — *J. amer. Soc.*, 1940, **62**, 3342.
- (54) GUERNET (M.). — *Thèse Doct. Univ.* (Pharmacie), Paris 1958.
- (55) GUIDOTTI (G.), COLOMBO (J. P.) et FOA-PIERO (P.). — *Anal. Chem.*, 1961, **33**, 151.
- (56) HALSALL (T. G.), HIRST (E. L.) et JONES (J. K. N.). — *J. chem. Soc.*, 1947, 1427.
- (57) HASSID (W. Z.) et BALLOU (C. E.). — *Carbohydrate Chemistry*. Academic Press, 1957, 507.
- (58) HOCKETT (R. C.) et MC GLENAHAN (W. S.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1939, **61**, 1667.
- (59) HOUGH (L.), POWELL (D. B.) et WOODS (B. M.). — *J. chem. Soc.*, 1956, 4799.
- (60) HOUGH (L.), TAYLOR (T. J.), THOMAS (C. H. S.) et WOODS (B. M.). — *J. chem. Soc.*, 1958, 1212.
- (61) HUGHES (G.), NEVELL (T. P.). — *Trans. Faraday Soc.*, 1948, **44**, 941.
- (62) HURD (C. D.), BAKER (P. J.), HOLYSZ (R. P.) et SAUNDERS (W. H.). — *J. org. Chem.*, 1953, **16**, 186.

- (63) JACKSON (E. L.) et HUDSON (C. S.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1936, **58**, 378.
- (64) JACKSON (E. L.) et HUDSON (C. S.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1937, **59**, 994.
- (65) JERMYN (M. A.) et ISHERWOOD (F. A.). — *Biochem. J.*, 1949, **44**, 402.
- (66) JURADO SOLER (A.). — *Thèse Doct. Univ.* (Sciences), Paris 1962.
- (67) MALAPRADE (L.). — *Bull. Soc. chim.*, 1928, **43**, 683.
- (68) MARI (R.), FEVE (M.) et DZIERZINSKI (M.). — *Bull. Soc. chim.*, 1961, 1395.
- (69) MEYER (K. M.) et RATHGEB (P.). — *Helv. Chim. Acta*, 1952, **35**, 2589.
- (70) MITRA (A. K.) et PERLIN (A. S.). — *Canad. J. chem.*, 1957, **35**, 1079.
- (71) MOE (O. A.), MILLER (S. E.) et BUCKLEY (M. I.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1951, **73**, 4185.
- (72) MOE (O. A.), MILLER (S. E.) et IWEN (M. H.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1947, **69**, 2621.
- (73) MOIR (S.). — *African J. Sci.*, 1914, **10**, 163.
- (74) NELSON (N.). — *J. biol. Chem.*, 1944, **153**, 375.
- (75) NOVELLIE (L.). — *Nature*, 1950, **166**, 745.
- (76) PAQUIN (R.). — *Thèse Doct. Univ.* (Pharmacie), Paris 1962.
- (77) PERLIN (A. S.) et BRICE (C.). — *Canad. J. Chem.*, 1955, **33**, 1216.
- (78) PERLIN (A. S.) et BRICE (C.). — *Canad. J. Chem.*, 1956, **34**, 85.
- (79) PERLIN (A. S.) et BRICE (C.). — *Canad. J. Chem.*, 1956, **34**, 541.
- (80) PETEK (F.). — *Thèse Doct. Univ.* (Pharmacie), Paris 1962.
- (81) RASCHIG (F.). — *Ber.*, 1915, **48**, 2088.
- (82) RAYMOND (A. L.) et SCHROEDER (E. F.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1948, **70**, 2785.
- (83) REEVES (R. E.). — *Adv. Carb. Chem.*, 1951, **6**, 115.
- (84) REEVES (R. E.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1949, **71**, 2116.
- (85) REEVES (R. E.). — *Anal. Chem.*, 1949, **21**, 751.
- (86) SCHIFFMAN (G.), KABAT (E. A.) et LESKOWITZ (S.). — *J. amer. chem. Soc.*, 1962, **84**, 73.
- (87) SCHOPF (C.) et WILD (H.). — *Ber.*, 1954, **87**, 1571.
- (88) SCHRYVER (S. B.). — *Proc. Roy. Soc. Dublin*, 1910, B. **82**, 226.
- (89) SCHWARZ (J. C. P.). — *J. chem. Soc.*, 1957, 276.
- (90) SOMMERS (F.) et PINCAS (H.). — *Ber.*, 1915, **48**, 1963.
- (91) SOMOGYI (M.). — *J. biol. chem.*, 1945, **160**, 61.
- (92) VAN OSS (C. J.), ANNICOLAS (D.) et LABIE (C.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1959, **41**, 1711.
- (93) VOSS (W.). — *Ann.*, 1931, **485**, 283.
- (94) WARSI (S. A.) et WHELAN (W. J.). — *Chem. Ind.*, 1958, 71.
- (95) WHISTLER (R. L.) et YAGI (K.). — *J. org. Chem.*, 1961, **26**, 1050.
- (96) WURZSCHMITT (B.). — *Mikrochem.*, 1951, **36**, 769.
- (97) ZUMAN (P.), SICHER (J.), KRUPICKA (J.) et SVOBODA (M.). — *Nature*, 1956, **178**, 1407.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
GÉNÉRALITÉS	17

PREMIÈRE PARTIE

Préparation des oligosides et méthodes générales d'analyse

Introduction	20
CHAPITRE PREMIER. — Préparation de quelques méthylosides et diholosides réducteurs	21
CHAPITRE II. — Analyse qualitative (techniques chromatographiques)	23
CHAPITRE III. — Analyse quantitative	27
CHAPITRE IV. — Etude d'un microdosage colorimétrique de l'acide périodique	30
CHAPITRE V. — Etude d'un microdosage colorimétrique du formaldéhyde	41

DEUXIÈME PARTIE

Etude cinétique de l'oxydation de quelques méthylosides, diholosides réducteurs et non réducteurs

Travaux antérieurs	50
Travaux personnels	
I. — Vitesse d'oxydation	60
II. — Evaluation des composés formés au cours des oxydations	73
Conclusions	79

TROISIÈME PARTIE

Isolement et identification des produits d'oxydation de quelques diholosides réducteurs

Introduction	84
Travaux personnels :	
Techniques analytiques	85
Discussion des résultats	87
Conclusions générales	95

QUATRIÈME PARTIE

Isolement et détermination de la structure de quelques polyaldéhydes obtenus par oxydation de diholosides réducteurs et non réducteurs

Introduction	98
Travaux personnels :	
Techniques analytiques	100
Discussion des résultats	100
Conclusions	104

CINQUIÈME PARTIE

Etude de l'ester formique intermédiaire obtenu par oxydation ménagée du lactose

Introduction	106
Travaux personnels :	
Techniques analytiques	108
Discussion des techniques analytiques	108
Interprétation des résultats	109
Conclusions	114
DISCUSSION GÉNÉRALE DES RÉSULTATS	117
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	121
BIBLIOGRAPHIE	125
TABLE DES MATIÈRES	129

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

" MÉTHODES RÉCENTES D'ACTIVATION DU GROUPEMENT CARBOXYLE AU COURS DE LA SYNTHÈSE DES POLYPEPTIDES "

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 8 mai 1963

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

MARC ZAMANSKY.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Le Recteur de l'Académie de Paris,

JEAN ROCHE.

Imprimerie Jacques et Demontrond - Besançon. — N° 2894.
N° d'Editeur : 295. - Dépôt légal 4^e trimestre 1963 : n° 7016.

